

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Else Kröner-Fresenius-Zentrum für Ernährungsmedizin

Fachgebiet Pädiatrische Ernährungsmedizin

Die Rolle von Vitamin D und Insulinresistenz in der Pathogenese des
Typ-1-Diabetes

Jennifer Raab

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für
Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung
des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. M. Klingenspor

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. H. Witt
2. Univ.-Prof. Dr. A.-G. Ziegler

Die Dissertation wurde am 22.04.2014 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung
und Umwelt am 21.07.2014 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	VIII
1. Einleitung.....	1
2. Grundlagen.....	4
2.1 Typ-1-Diabetes	4
2.2 Epidemiologie des Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter	4
2.3 Pathogenese des Typ-1-Diabetes.....	5
2.3.1 Genetische Prädisposition	6
2.3.2 Charakteristik der prädiabetischen Phase und der Einfluss von Umweltfaktoren	7
2.4 Vitamin D	12
2.4.1 Klassische Funktionen.....	14
2.4.2 Genetik des Vitamin D-Metabolismus und Assoziationen mit Typ-1-Diabetes	14
2.4.3 Effekte von Vitamin D auf das Immunsystem.....	17
2.4.4 Einfluss von Vitamin D auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz	18
2.4.5 Vitamin D in der Prävention des Typ-1-Diabetes.....	19
3. Methoden	21
3.1 Studienpopulationen	21
3.1.1 BABYDIAB Studie.....	21
3.1.2 BABYDIÄT Studie	22
3.1.3 TEENDIAB Studie.....	22
3.1.4 DiMelli Studie	24
3.1.5 Übersicht und Charakteristik der Studienpopulationen bezogen auf die untersuchten Fragestellungen	25
3.2 Datenerhebung.....	29
3.2.1 Körpergröße und -gewicht	29

3.2.2	Pubertätsentwicklung	29
3.2.3	Blutentnahmen	30
3.2.4	Glukosetoleranztests.....	30
3.2.5	Vitamin D-Zufuhr	31
3.3	Analytik	31
3.3.1	25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)	32
3.3.2	Insulin und C-Peptid.....	34
3.3.3	DNA-Isolierung und Bestimmung der Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Genen	35
3.3.4	Diabetes-assoziierte Inselautoantikörper.....	37
3.3.5	Extern gemessene Parameter.....	37
3.4	Datenmanagement und Statistik	38
4.	Ergebnisse	41
4.1	Charakterisierung der TEENDIAB Studienkohorte und Compliance der Studienteilnehmer	41
4.2	Abhängigkeit des Vitamin D-Spiegels in den untersuchten Studienpopulationen....	42
4.2.1	Abhängigkeit des 25(OH)D-Spiegels.....	42
4.2.2	Abhängigkeit der Calcitriol (1,25(OH) ₂ D ₃)-Spiegel in der Risikokohorte	44
4.3	Prävalenz von Vitamin D-Mangel und 25(OH)D-Konzentration im Prädiabetes.....	45
4.4	Einfluss von Vitamin D-Mangel und 25(OH)D-Konzentrationen auf die Typ-1- Diabetes-Progressionsrate von Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern.....	47
4.5	Einfluss der Vitamin D-Konzentrationen im Blut auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz	49
4.5.1	Typ-1-Diabetes-Risikokohorte.....	49
4.5.2	Typ-1-Diabetes-Kohorte	52
4.6	Ausprägung ausgewählter Vitamin D-Metabolismus-assoziiierter SNPs und deren Einfluss auf die 25(OH)D-Konzentration im Plasma und Parameter der β -Zellfunktion.....	55

4.6.1	Vitamin D-Metabolismus-assoziierte SNPs und Plasma 25(OH)D-Konzentrationen	55
4.6.2	Vitamin D-Metabolismus-assoziierte SNPs und β -Zellfunktion	57
4.7	Entwicklung von Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter in Abhängigkeit von Geschlecht, Pubertätsstadien und Inselautoantikörperstatus bei Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko	67
5.	Diskussion	72
5.1	Vitamin D-Status im Prädiabetes und dessen Einfluss auf die Typ-1-Diabetes-Progressionsrate	73
5.2	Einfluss von Vitamin D, sowie von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz	77
5.2.1	Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf 25(OH)D-Konzentrationen im Plasma	77
5.2.2	Typ-1-Diabetes-Risikokohorte	79
5.2.3	Typ-1-Diabetespatienten	82
5.3	Entwicklung von Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter bei Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko	84
6.	Zusammenfassung.....	87
7.	Literatur.....	90
8.	Appendix	110
	Publikationsverzeichnis	110
	Danksagung	112
	Lebenslauf	113

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Charakteristik der Studienpopulationen zur Analyse der Prävalenz eines Vitamin D-Mangels.....	27
Tab. 2: Übersicht über Probenmaterial, Lagerung und Verarbeitung	30
Tab. 3: Analytische Spezifität des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits von DiaSorin.....	33
Tab. 4: Übersicht über die untersuchten SNPs der Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Gene	36
Tab. 5: Deskriptive Kennzahlen der TEENDIAB Studienpopulation	41
Tab. 6: Übersicht des prozentualen Anteils der durchgeführten Nachuntersuchungen	42
Tab. 7: Abhängigkeit des Plasma 25(OH)D-Spiegels in den einzelnen Studienpopulationen	44
Tab. 8: Abhängigkeit der Calcitriol (1,25(OH) ₂ D ₃)-Spiegel in der Risikokohorte.....	45
Tab. 9: Charakteristik der β -Zellfunktionsparameter in der Risikokohorte	51
Tab. 10: Einfluss von 25(OH)D und Calcitriol auf β -Zellfunktionsparameter und Insulinresistenz in der Risikokohorte.....	52
Tab. 11: Nüchtern-C-Peptid und Insulinsensitivität in der Typ-1-Diabetes-Kohorte.....	53
Tab. 12: Einfluss von 25(OH)D auf Nüchtern-C-Peptid und Insulinsensitivität in Typ-1-Diabetespatienten.....	54
Tab. 13: Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf 25(OH)D-Konzentration (ng/ml).....	56
Tab. 14: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Insulinresistenz (HOMA-IR) in der Risikokohorte	58
Tab. 15: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-Glukose in der Risikokohorte	59

Tab. 16: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-C-Peptid in der Risikokohorte	60
Tab. 17: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der FPIR in der Risikokohorte	61
Tab. 18: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der AUC C-Peptid (ivGTT) in der Risikokohorte	62
Tab. 19: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der AUC C-Peptid (oGTT) in der Risikokohorte.....	63
Tab. 20: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der Insulinsensitivität (ISI) in der Risikokohorte.....	64
Tab. 21: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-C-Peptid bei Typ-1-Diabetespatienten	65
Tab. 22: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Insulinsensitivität (Dabelea-Score) bei Typ-1-Diabetespatienten	66
Tab. 23: HOMA-IR, BMI und BMI-SDS und Anzahl der untersuchten Jungen und Mädchen der BABYDIAB/TEENDIAB Studien in den verschiedenen Altersstufen	68

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Pathogenesemodell des Typ-1-Diabetes.....	6
Abb. 2: Schematische Darstellung des Vitamin D-Metabolismus	13
Abb. 3: Immunmodulatorische Effekte von Calcitriol	18
Abb. 4: Übersicht der verwendeten Studienpopulationen zur Analyse der Vitamin D-Spiegel und deren Einfluss auf Erkrankungsprogression und β -Zellfunktion/Insulinresistenz.....	25
Abb. 5: Übersicht der verwendeten Studienpopulationen zur Analyse der Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter	28
Abb. 6: Testprinzip des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits von DiaSorin	32
Abb. 7: Beispiel einer Standardkurve des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits.....	33
Abb. 8: Testprinzip des Immunoassay-Analyzer AIA 360 von Tosoh	34
Abb. 9: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen aufgeteilt nach Monaten in Blutproben der Inselautoantikörper-negativen (AK-, graue Linie), -positiven (AK+, rote Linie) Studienteilnehmer und Kinder mit Typ-1-Diabetes (T1D, schwarze Linie)	43
Abb. 10: Prävalenz von schwerwiegendem Vitamin D-Mangel (grau), Mangel (gepunktet), unzureichendem (gestrichelt) und optimalem (schwarz) Vitamin D-Status in Inselautoantikörper-positiven (AK+), -negativen (AK-) und Kindern mit Typ-1-Diabetes (T1D)	46
Abb. 11: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen (schwarze Linie stellt den Mittelwert dar) zwischen Inselautoantikörper-negativen (AK-), -positiven (AK+) und Kindern mit Typ- 1-Diabetes (T1D)	47
Abb. 12: Kumulatives Risiko für die Entwicklung von Typ-1-Diabetes ab dem Zeitpunkt der Vitamin D-Messung (12-24 Monate nach dem erstmaligen Auftreten von Inselautoimmunität) in Abhängigkeit vom Vitamin D-Status	48
Abb. 13: Korrelation von Insulinsensitivität (ISI) mit HOMA-IR (A) und FPIR mit BMI-SDS (B) in der Typ-1-Diabetes-Risikopopulation	50

Abb. 14: Korrelation von Insulinsensitivität (Dabelea-Score) mit Alter (A) und BMI-SDS (B) in der Typ-1-Diabetes-Kohorte.....	53
Abb. 15: Korrelation von 25(OH)D-Konzentrationen mit Insulinsensitivität (Dabelea-Score) in der Typ-1-Diabetes-Kohorte.....	54
Abb. 16: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen (schwarze Linie stellt den Mittelwert dar) zwischen den verschiedenen Ausprägungen des SNPs <i>DHCR7 rs4945008</i>	56
Abb. 17: (A) HOMA-IR (MW±SEM) von Mädchen (gestrichelte Linie) und Jungen (schwarze Linie) der BABYDIAB/TEENDIAB Studien	69
Abb. 18: (A, B) HOMA-IR (MW±SEM) in Inselautoantikörper-negativen (AK-) und positiven (AK+) Mädchen (A) und Jungen (B). Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder in jeder Altersgruppe. (C, D) Kumulativer Anteil an Mädchen (C) und Jungen (D) mit Tannerstadium 2, unterteilt in AK- und AK+ Kinder	71

Abkürzungsverzeichnis

7-DHC	7-Dehydrocholesterol
25(OH)D	25-Hydroxyvitamin D
1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxyvitamin D ₃
ADA	American Diabetes Association
AK-	Inselautoantikörper-negativ
AK+	Inselautoantikörper-positiv
AUC	Area under the curve
BMI	Body mass index
CD	Cluster of differentiation
cpm	Counts per minute
CYP	Cytochrom P450
DBP	Vitamin D-bindendes Protein
DC	Dendritic cell
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DGKJ	Deutsche Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ESPGHAN	Europäische Gesellschaft für pädiatrische Gastroenterologie, Hepatology und Ernährung
FPIR	First phase insulin response
FU	Follow up
GAD	Glutamatdecarboxylase
GADA	Autoantikörper gegen Glutamatdecarboxylase
GC	Group-specific component
GLUT4	Glukosetransporter Typ 4
HLA	humanes Leukozytenantigen
HOMA-IR	Homeostasis model assessment of insulin resistance
HPLC	High-performance liquid chromatography
HR	Hazard ratio
IA-2	Insulinoma-assoziiertes Antigen 2
IA-2A	Autoantikörper gegen Insulinoma-assoziiertes Antigen 2

IAA	Insulin-Autoantikörper
IFIH1	Interferon induced with helicase C domain 1
IFN	Interferon
IGF	Insulin-like growth factor
IL	Interleukin
INS VNTR	Insulin gene variable number of tandem repeats
IQR	Interquartile range
ISI	Insulinsensitivitätsindex
IU	International unit
ivGTT	intravenöser Glukosetoleranztest
K2-/K3-EDTA	Dikalium-/Trikalium-Ethylendiamintetraacetat
KI	Konfidenzintervall
LH	Luteinisierendes Hormon
MHC	Major histocompatibility complex
MW	Mittelwert
NOD	Non-obese diabetic
oGTT	oraler Glukosetoleranztest
PCR	Polymerase chain reaction
PTH	Parathormon
SD	Standard deviation
SDS	Standard deviation score
SDS	Sodium dodecyl sulfate
SEM	Standard error of the mean
SNP	Single nucleotide polymorphism
TE	Tris-Ethylendiamintetraacetat
Th	T-Helferzelle
UV	ultraviolette Strahlung
VDR	Vitamin D-Rezeptor
VDRE	Vitamin D response element
WHO	World Health Organisation
ZnT8	Zinktransporter 8
ZnT8RA/ZnT8WA	Autoantikörper gegen Zinktransporter 8 mit einem Arginin (R) bzw. Tryptophan (W) an Aminosäure 325

1. Einleitung

Typ-1-Diabetes gehört in Deutschland zu den häufigsten Autoimmunerkrankungen. Insbesondere im Kindes- und Jugendalter führt der Typ-1-Diabetes die Liste der am häufigsten diagnostizierten Stoffwechselerkrankungen an. Die jährliche Neuerkrankungsrate bei den 0 bis 14-Jährigen steigt um 2 bis 6 % und hat sich im Vergleich zu den frühen 1990er Jahren verdoppelt (22 vs. 11 pro 100 000 pro Jahr) (Patterson et al., 2012).

Die Ursachen des Typ-1-Diabetes sind multifaktoriell. Es wird vermutet, dass genetische und umweltbedingte Faktoren, sowie familiäre Prädisposition nicht nur bestimmen, wer an Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes erkrankt, sondern auch den Zeitpunkt der Entstehung von Inselautoimmunität beeinflussen. Bereits Jahre vor Ausbruch der Erkrankung lassen sich in der Phase des Prädiabetes, der sogenannten Inselautoimmunität, Diabetes-spezifische Inselautoantikörper im Blut nachweisen. Dieser Prozess kann durch Umweltfaktoren getriggert werden (Ziegler und Nepom, 2010). Im weiteren Verlauf der Erkrankung nimmt die β -Zellfunktion ab, welche mit einer verminderten Insulinsekretion nach Glukosebelastung und einer gestörten Glukosetoleranz einhergeht. Nach Verlust von ca. 80 % der β -Zellmasse geht der dysglykämische Zustand schließlich in das Stadium des klinisch manifesten Typ-1-Diabetes über (Atkinson und Eisenbarth, 2001).

Der Prozess der Progression von Inselautoimmunität zum manifesten Typ-1-Diabetes ist individuell sehr variabel und kann sehr rasch innerhalb weniger Monate stattfinden, oder bis zu 20 Jahre nach dem ersten Auftreten der Inselautoantikörper andauern (Ziegler et al., 2013). Während der Inzidenzspitze für die klinische Manifestation eines Typ-1-Diabetes in der Pubertät liegt, entsteht Inselautoimmunität bereits am häufigsten in der frühen Kindheit (1. bis 2. Lebensjahr) (Ziegler und Nepom, 2010, Ziegler und Bonifacio, 2012).

Ziel der vorliegenden Dissertationsschrift war es, Umweltfaktoren in der Pathogenese der Inselautoimmunität und der Progression zum Typ-1-Diabetes aufzuklären, mit dem Fokus auf zwei Faktoren: Vitamin D und Insulinresistenz. Für Vitamin D existieren bereits einige Studien, die es als einen wichtigen Faktor für die Entstehung von Autoimmunerkrankungen beschreiben (Kriegel et al., 2011, Borges et al., 2011). Bereits 1991 konnten Baumgartl et al. zeigen, dass neu manifestierte Typ-1-Diabetespatienten einen signifikant niedrigeren Vitamin D-Spiegel aufwiesen als gesunde Kontrollpersonen. Dieser Effekt wurde in späteren Studien bestätigt (Pozzilli et al., 2005, Littorin et al., 2006). Vitamin D ist ein potenter Modulator der erworbenen Immunität und ein Mangel wird mit einem höheren Typ-1-Diabetesrisiko in Verbindung gebracht (Luong et al., 2005, Baeke et al., 2010). Verschiedene Supplementationsstudien, bei denen Vitamin D in der Schwangerschaft oder frühen Kindheit

eingenommen wurde, kamen jedoch zu kontroversen Ergebnissen im Hinblick auf die protektive Wirkung von Vitamin D auf die Entstehung von Typ-1-Diabetes (EURODIAB-Study-Group, 1999, Hyppönen et al., 2001, Brekke und Ludvigsson, 2007, Marjamäki et al., 2010). Neben den immunmodulatorischen Eigenschaften werden Vitamin D auch positive Effekte auf Insulinsekretion und Insulinresistenz zugesprochen. Dies konnte hauptsächlich in Studien mit Typ-2-Diabetespatienten (Alvarez und Ashraf, 2010, Mezza et al., 2012), sowie im Tierversuch untermauert werden (Alvarez und Ashraf, 2010, Norman et al., 1980, Clark et al., 1981). Jedoch konnte eine Gabe der aktiven Form des Vitamin D (Calcitriol) den Rückgang der β -Zellfunktion bei neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten nicht verhindern (Walter et al., 2010, Bizzarri et al., 2010).

Neben Vitamin D sind auch verschiedene, dem Vitamin D-Metabolismus zugeordnete Gene mit Typ-1-Diabetes assoziiert. So konnte eine aktuelle Studie bestimmte Ausprägungen der Einzelnukleotid-Polymorphismen (*Single Nucleotide Polymorphism*, SNPs) von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Genen, mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes in Verbindung bringen (Cooper et al., 2011).

Der zweite Umweltfaktor in der Pathogenese der Inselautoimmunität, über den in dieser Dissertationsschrift aufgeklärt werden soll, ist die Insulinresistenz. Zu Zeiten des zunehmenden Übergewichts im Kindesalter wird auch die Insulinresistenz als ein Risikofaktor für Typ-1-Diabetes diskutiert (Furlanos et al., 2004). Interessanterweise erreicht die physiologische Insulinresistenz während der Pubertät ihren Höhepunkt (Travers et al., 1995, Moran et al., 1999) und Typ-1-Diabetes manifestiert oft im selben Zeitraum (Atkinson und Eisenbarth, 2001). Im Typ-1-Diabetes-Mausmodell konnte bereits gezeigt werden, dass Hyperinsulinämie, ein Marker für Insulinresistenz, dem Krankheitsausbruch vorausgeht (Amrani et al., 1998).

Nach wie vor gibt es jedoch kaum Studien, die Insulinsensitivität und -resistenz bei Kindern mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes, speziell im Zeitraum der Pubertät, untersucht haben. Ebenso wenig Daten existieren auch zur Rolle von Vitamin D im Prä-Typ-1-Diabetes und ob ein präklinischer Mangel den Krankheitsverlauf beeinflusst. Des Weiteren ist erst wenig über den Zusammenhang des Vitamin D-Spiegels im Plasma und der β -Zellfunktion von Typ-1-Diabetespatienten bekannt. Die Abhängigkeit der β -Zellfunktion und Insulinresistenz vom Vitamin D-Status und von bestimmten Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Genen in einer Typ-1-Diabetes-Risikokohorte wurde noch nie untersucht.

Ziel der vorliegenden Dissertationsschrift war es deshalb, die Faktoren Vitamin D und Insulinresistenz in der Pathogenese von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes anhand folgender Fragestellungen näher zu untersuchen:

1. Unterscheiden sich die Prävalenz eines Vitamin D-Mangels, sowie der Vitamin D-Status bei prädiabetischen Kindern (Kinder mit mehreren [multiplen] positiven Inselautoantikörpern) im Vergleich zu neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten und gesunden Inselautoantikörper-negativen Kindern?
2. Beeinflussen Vitamin D-Mangel und Vitamin D-Konzentrationen im Plasma die Entstehung des Typ-1-Diabetes bei Kindern mit multiplen positiven Inselautoantikörpern?
3. Gibt es einen Zusammenhang zwischen Vitamin D-Status, sowie ausgewählten Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und β -Zellfunktion und Insulinresistenz?
4. Wie entwickelt sich die Insulinresistenz von Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko im Kindes- und Jugendalter und gibt es Unterschiede zwischen Inselautoantikörper-negativen und -positiven Kindern? Welchen Einfluss hat der Pubertätsbeginn auf die Entwicklung der Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter?

Diese Fragestellungen wurden anhand von unterschiedlichen Kohorten untersucht: Die Typ-1-Diabetes-Risikokohorte (Inselautoantikörper-positive und -negative Kinder) setzt sich zusammen aus den prospektiven Geburtskohorten BABYDIAB und BABYDIÄT und der Teenagerkohorte TEENDIAB. Die neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten entstammen der bayrischen Diabetesregisterstudie DiMelli. Während die Kohorten BABYDIAB, BABYDIÄT und DiMelli bereits etabliert waren und die eingelagerten Bioproben für die Dissertation zur Verfügung standen, wurde das TEENDIAB Kollektiv im Rahmen dieser Dissertation aufgebaut.

Insgesamt soll diese Arbeit zu neuen Erkenntnissen in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes führen und Vitamin D-Mangel als auch Insulinresistenz als potentielle Risikofaktoren näher charakterisieren.

2. Grundlagen

2.1 Typ-1-Diabetes

Der Diabetes mellitus Typ 1 ist eine chronische Autoimmunerkrankung, deren Prävention und vollständige Heilung bis zum heutigen Zeitpunkt nicht möglich ist. Das Immunsystem richtet sich im Fall des Typ-1-Diabetes gegen die insulinproduzierenden β -Zellen der Langerhans-Inseln im Pankreas, was zu einer selektiven und fortschreitenden Zerstörung dieser Zellen führt (Atkinson und Eisenbarth, 2001). Als Folge des dadurch entstandenen absoluten Insulinmangels kommt es zur Hyperglykämie und somit auch zur Ausscheidung von Glukose im Urin. Durch den gestörten Glukosestoffwechsel kommt es zur Bildung von Ketonkörpern aus dem verstärktem Abbau von Fetten, was unbehandelt ohne Insulintherapie zum ketoazidotischen Koma führen und tödlich enden kann. Erkrankte Personen müssen deshalb lebenslang exogenes Insulin zuführen. Trotz guter Therapiemöglichkeiten kann der Typ-1-Diabetes mikro- und makrovaskuläre Folgeerkrankungen, wie Nieren-, Nerven- und Augenschädigungen nach sich ziehen (Mehnert et al., 2003).

Die Erkrankung tritt meist plötzlich auf und ist gekennzeichnet durch Symptome wie Polyurie, Polydipsie, raschen Gewichtsverlust, Übelkeit, Erbrechen und trockene Haut (Mehnert et al., 2003). Die Manifestation kann in jedem Alter erfolgen und während man früher noch von einem Erkrankungsgipfel in der Pubertät ausging (Dabelea et al., 2007), zeigen aktuellere Beobachtungen eine stetige Inzidenz vom 1. bis 15. Lebensjahr (Harjutsalo et al., 2008).

2.2 Epidemiologie des Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter

Bei Kindern und Jugendlichen können 90 % aller Diabetesfälle dem Typ-1-Diabetes zugeordnet werden, hingegen sind nur 5-10 % der erwachsenen Diabetespatienten vom Typ 1 betroffen (Achenbach et al., 2010). Die Hälfte aller Patienten entwickelt die Krankheit vor dem 20. Lebensjahr, deshalb wurde der Typ-1-Diabetes früher oft als „jugendlicher“ Diabetes bezeichnet.

Die Neuerkrankungsrate variiert weltweit sehr stark. Besonders hohe Inzidenzraten werden in wirtschaftlich hoch entwickelten Ländern wie Nordamerika (USA und Kanada, >10/100 000 pro Jahr), Australien (>20/100 000 pro Jahr) und Europa beobachtet, während China eine der niedrigsten Inzidenzraten weltweit vorweist (<0,1/100 000 pro Jahr) (Soltesz et al., 2007, The-DIAMOND-Project-Group, 2006).

Innerhalb Europas besteht ein deutliches Nord-Süd-Gefälle. Ergebnisse der von 1989 bis 1998 durchgeführten EURODIAB Studie zeigen eine stark erhöhte Inzidenzrate in Skandinavien mit Finnland als Spitzenreiter ($>40/100\ 000$ pro Jahr), während vor allem im Mittelmeerraum die Neuerkrankungen pro Jahr deutlich niedriger liegen (z.B. Griechenland: $7/100\ 000$ pro Jahr). Die einzige Ausnahme bildet die Insel Sardinien mit einer Inzidenzrate von $38/100\ 000$ pro Jahr (Soltesz et al., 2007).

In Deutschland hat sich die Inzidenz im Kindes- und Jugendalter von 1989 bis 2008 von $11/100\ 000$ pro Jahr auf $22/100\ 000$ pro Jahr in etwa verdoppelt (Patterson et al., 2012). Die im Rahmen des Diabetes-Inzidenz-Registers Baden-Württemberg (DIARY) gewonnenen Daten zeigten eine Typ-1-Diabetesprävalenz im Jahr 2006 von $0,126\ \%$ bei Kindern unter 15 Jahren mit einem durchschnittlichen jährlichen Anstieg von $4,4\ \%$. Das Alter bei Typ-1-Diabetesmanifestation lag im Median bei 8,0 Jahren. Mathematischen Prognosen zufolge könnte die Prävalenz im Jahr 2026 bereits bei $0,265\ \%$ liegen und die Kinder wären bei Krankheitsausbruch deutlich jünger (Ehehalt et al., 2012).

Im Gegensatz zu anderen Autoimmunerkrankungen gibt es beim Typ-1-Diabetes keinen geschlechts-spezifischen Trend (Soltesz et al., 2007), allerdings wurden jahreszeitliche Schwankungen im Auftreten des Typ-1-Diabetes beobachtet. In Abhängigkeit der geografischen Region treten Typ-1-Diabetesfälle gehäuft in den Wintermonaten auf, während in den Sommermonaten die Inzidenzrate vergleichsweise niedrig ist (Moltchanova et al., 2009).

2.3 Pathogenese des Typ-1-Diabetes

Das klassische Pathogenesemodell (Abb. 1) basierend auf Eisenbarth (1986) unterteilt den Verlauf in 3 Phasen:

- Genetische bzw. familiäre Prädisposition
- Prädiabetes: Entstehung und Progression einer Autoimmunität gegen die β -Zellen des Pankreas mit schrittweiser Zerstörung der insulin-produzierenden Zellen
- Klinische Manifestation des Typ-1-Diabetes, einhergehend mit dem vollständigen Verlust der verbliebenen β -Zellmasse.

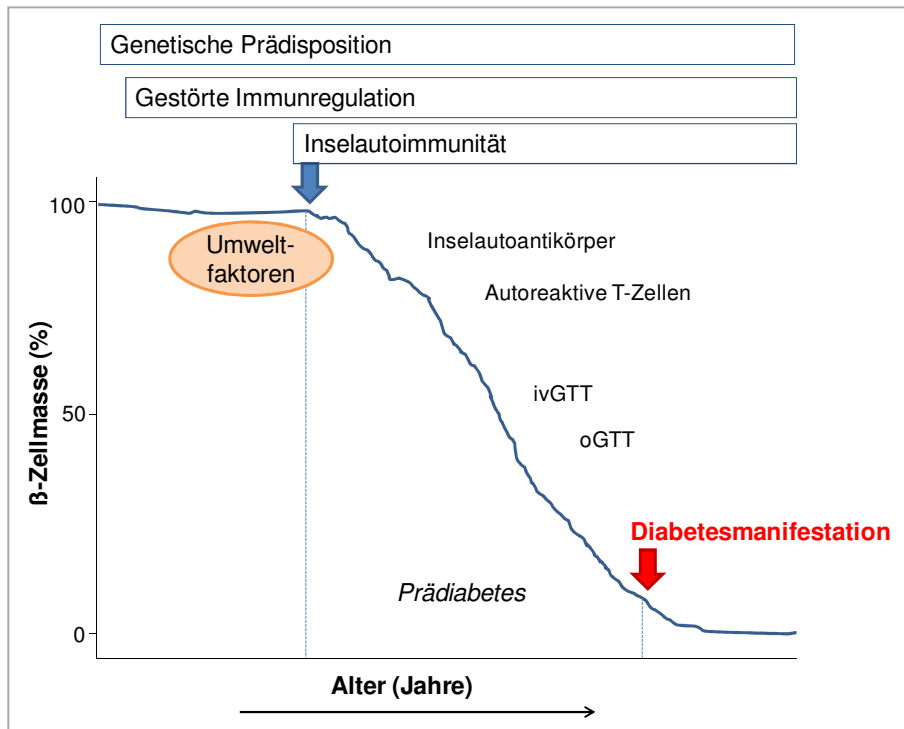


Abb. 1: Pathogenesemodell des Typ-1-Diabetes (modifiziert nach Eisenbarth, 1986).

2.3.1 Genetische Prädisposition

Das Risiko für die Normalbevölkerung einen Typ-1-Diabetes zu entwickeln liegt bei ca. 0,3 %. Studien zeigten, dass dieses Risiko jedoch auf 3 bis 8 % ansteigen kann, wenn ein Verwandter 1. Grades (Mutter, Vater, Geschwisterkind) bereits von der Krankheit betroffen ist (Bonifacio et al., 2004). So ist das Risiko für ein Kind, dessen Vater an Typ-1-Diabetes erkrankt ist höher (5 %), als wenn die Mutter (3 %) betroffen ist. Ist ein Geschwisterkind erkrankt, steigt das Risiko für das nicht-diabetische Kind auf bis zu 8 % an (Ziegler und Nepom, 2010).

Neben der familiären Prädisposition können beim Typ-1-Diabetes auch verschiedene Genloci zur Risikostratifizierung beitragen. Es sind momentan über 50 Genregionen mit dem Typ-1-Diabetes assoziiert (Pociot et al., 2010). Dabei spielen die humanen Leukozytenantigen (*HLA*)-Klasse-II-Gene auf dem Chromosom 6p21 die wichtigste Rolle. Besonders einige Allele der *HLA-DQ* und *-DR*-Gene sind mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes assoziiert. Die stärkste Assoziation zeigte hier der *HLA*-Genotyp *DR3 (DR3-DQA1*0501-DQB1*0201) / DR4 (DR4-DQA1*0301-DQB1*0302)*, der laut Untersuchungen bei 39 % der Typ-1-Diabetespatienten vorlag, die vor dem 20. Lebensjahr erkrankten (Lambert et al., 2004). Ein weiterer diabetes-assoziiertes Genotyp wurde in der Promotorregion des Insulingens (*INS VNTR*) gefunden. So ist z.B. mit dem *INS-VNTR*-Klasse-I / I-Genotyp ein

gehäuftes Auftreten der Inselautoantikörper gegen Insulin (IAA) assoziiert (Achenbach et al., 2010). Neben *HLA*- und *INS VNTR*-Genen können noch weitere Gene, wie z.B. das *IFIH1*-Gen (*interferon induced with helicase C domain 1*, kodiert für Interferon-induzierte Helikase, Funktion: Abwehr von Viren) in den Autoimmunprozess involviert sein (Winkler et al., 2011) und macht den Typ-1-Diabetes somit zu einer polygenen Erkrankung.

2.3.2 Charakteristik der prädiabetischen Phase und der Einfluss von Umweltfaktoren

Immunologische Prozesse und diagnostische Marker

Am Anfang der prädiabetischen Phase entsteht die Autoimmunreaktion gegen die insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas und es kommt im Verlauf zu einer Zerstörung und Entzündung der β -Zellen durch Infiltration von mononukleären Zellen der pankreatischen Inseln (Insulitis) (Gepts, 1965, Foulis et al., 1986). Nach einem Verlust von ca. 80-90 % der Gesamt- β -Zellmasse kommt es zur klinischen Manifestation des Typ-1-Diabetes (Achenbach et al., 2010). Die infiltrierenden Zellen bestehen vor allem aus CD (*cluster of differentiation*) 4+ und CD8+ T-Zellen, Makrophagen und B-Zellen (Bach, 1994, Atkinson und Eisenbarth, 2001), wobei im NOD (*none-obese diabetic*)-Mausmodell gezeigt wurde, dass besonders CD4+ T-Zellen initial am Entzündungsprozess der β -Zellen beteiligt sind (Haskins und McDuffie, 1990). Auf Grund unterschiedlicher Zytokinausschüttung werden die CD4+ T-Zellen in T-Helferzellen Typ 1 (Th1) und Typ 2 (Th2) Zellen eingeteilt. Th1-Zellen produzieren vor allem pro-inflammatorische Zytokine (Interleukin (IL)-2, Interferon (IFN)- γ , Tumornekrosefaktor (TNF)- α), Th2-Zellen schütten hauptsächlich anti-inflammatorische Zytokine wie IL-4, IL-6 und IL-10 aus (Mosmann et al., 1986, Abbas et al., 1996). Es wird angenommen, dass bei der Entwicklung von Typ-1-Diabetes ein Ungleichgewicht vorliegt und die Th1-Antwort dominiert (Castano und Eisenbarth, 1990, Liblau et al., 1995).

Neben diesen autoreaktiven T-Zellen, die diagnostisch zum jetzigen Zeitpunkt jedoch keine Rolle spielen, gelten Autoantikörper gegen β -Zellantigene als wichtigster diagnostischer Marker. Antikörper gegen das Hormon Insulin (IAA), gegen das Enzym Glutamatdecarboxylase (GADA), gegen Tyrosinphosphatase-homologe Proteine IA-2 (IA-2A) und IA-2 β (IA-2 β A), sowie gegen die zwei Isoformen des Autoantigens Zinktransporter 8 (ZnT8RA und ZnT8WA) können bereits Jahre vor Ausbruch der Erkrankung mittels sensitiven, international standardisierten Methoden im venösen und kapillaren Blut nachgewiesen werden (Atkinson und Eisenbarth, 2001, Achenbach et al., 2009). Das Auftreten, die Affinität und die Progression der Inselautoantikörper sind jedoch stark vom Alter abhängig. Ergebnisse der BABYDIAB Studie zeigten, dass

Inselautoimmunität (=Vorhandensein von Inselautoantikörpern) einen ersten Inzidenzpeak in der frühen Kindheit (6. bis 24. Monat) hat und gekennzeichnet ist durch hochaffine, häufig gegen Insulin gerichtete Antikörper (Bonifacio et al., 1999) und dem Vorhandensein der Hochrisikogene *HLA DR3/4-DQ8* oder *DR4/4-DQ8* (Ziegler und Bonifacio, 2012). Betroffene Kinder zeigten eine schnelle Progression zu multiplen Autoantikörpern und erkrankten meist schon vor der Pubertät (Ziegler et al., 1999, Hummel et al., 2004). Die Ergebnisse deuteten auch auf einen zweiten Inzidenzpeak der Inselautoimmunität in der Pubertät hin, die aber ein unterschiedliches Profil aufwies: keine *HLA*-Risikogene, niedrig affine Antikörper, meist gegen Insulin oder GAD gerichtet und keine oder langsame Progression zu multiplen Antikörpern (Ziegler und Nepom, 2010).

Generell entscheidend für Progression zum Typ-1-Diabetes ist nicht nur das Auftreten von Inselautoantikörpern sondern auch die Ausweitung von einem auf mehrere Antigene. So stellt das Vorhandensein eines singulären bzw. transienten Inselautoantikörpers in den meisten Fällen eine harmlose nichtprogressive Inselautoimmunität dar (Colman et al., 2000, Hummel et al., 2004). Hingegen steigt das Typ-1-Diabetesrisiko beim Auftreten von multiplen Inselautoantikörpern enorm an. Neueste Ergebnisse aus prospektiven Verlaufsbeobachtungsstudien in Risikopopulationen zeigten, dass der Großteil an Kindern (84 %), die mehrere Inselautoantikörper im Blut aufwiesen, innerhalb von 15 Jahren nach dem erstmaligen Nachweis an Typ-1-Diabetes erkrankten (Ziegler et al., 2013).

Weitere diagnostische Mittel im Prädiabetes stellen metabolische Marker dar. Eine eingeschränkte Insulinantwort auf intravenöse Glukosebelastung, oder eine gestörte Glukosetoleranz im oralen Glukosetoleranztest deuten auf eine fortgeschrittene β -Zellzerstörung hin und können somit wichtige Marker für die Progression des Typ-1-Diabetes sein (Bingley et al., 2008), jedoch sind diese Parameter in der frühen Phase des Autoimmunprozesses noch nicht pathologisch verändert (Achenbach et al., 2010).

Umweltfaktoren

Die unterschiedlichen Verlaufsformen in der prädiabetischen Phase deuten nicht nur auf unterschiedliche genetische Prädisposition hin, sondern es werden auch die variablen Umwelteinflüsse in einzelnen Altersgruppen diskutiert (Achenbach et al., 2005).

Ein weiterer deutlicher Hinweis, der den Einfluss von Umweltfaktoren in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes unterstreicht, ist die „nur“ 50 %ige Konkordanz für die Erkrankung bei eineiigen Zwillingen (Hirschhorn, 2003).

Die Exposition zu bestimmten Nahrungsbestandteilen spielt bei den Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle. Besonders die Ernährung in der frühen Kindheit scheint im Hinblick auf das spätere Auftreten von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes eine Rolle zu spielen. Das Immunsystem des Kindes wird in den ersten Monaten besonders durch die Muttermilch geprägt. Laut Empfehlungen der WHO (*World Health Organisation*) sollen Säuglinge 6 Monate ausschließlich gestillt werden. Analysen zeigten jedoch, dass Kinder, bei denen ein Elternteil Typ-1-Diabetes hatte, kürzer gestillt wurden, im Vergleich zu Kindern gesunder Eltern (Schoen et al., 2008) und die empfohlene WHO-Stilldauer wurde in nur 18,8 % der Familien mit Typ-1-Diabetes Patienten erreicht (Pflüger et al., 2010). Als Gründe werden Schwierigkeiten bei der Stoffwechseleinstellung der Mütter und Komplikationen bei der Geburt aufgeführt. Untersuchungen der internationalen TRIGR (*Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk*) Studie konnten diese Ergebnisse allerdings nicht bestätigen (Sorkio et al., 2010). Auch hinsichtlich Entwicklung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes sind die Ergebnisse kontrovers. Untersuchungen aus prospektiven Studien zeigten keinen signifikanten Einfluss von Stilldauer auf Inselautoimmunität (Hummel et al., 2000, Ziegler et al., 2003, Virtanen et al., 2006). Eine aktuelle Metaanalyse, die Ergebnisse aus 43 weltweiten Studien zusammenfasst, weist auf einen schwach protektiven Effekt des Stillens hinsichtlich der Entstehung von Typ-1-Diabetes hin (Cardwell et al., 2012). Als eine mögliche Erklärung der schützenden Wirkung von Muttermilch wird vermutet, dass somit eine sehr frühe Zufuhr von kritischen Nahrungsmittelallergenen wie z.B. Kuhmilchproteine oder Gluten vermieden wird.

Sowohl frühe Einführung (<2. bis 4. Lebensmonat) von Kuhmilch (Gerstein, 1994, Kimpimäki et al., 2001), als auch von Gluten (Ziegler et al., 2003, Norris et al., 2003) sind mit einem erhöhtem Risiko für Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes assoziiert. Aktuell soll in der internationalen TRIGR Studie überprüft werden, ob die Gabe von ausschließlich hoch hydrolysierten hypoallergenen, im Vergleich zu herkömmlicher Säuglingsmilchnahrung auf Kuhmilchbasis, die Entwicklung von Inselautoantikörpern unterschiedlich beeinflusst (TRIGR-Study-Group, 2007). Die Ergebnisse der Pilotstudie lassen einen protektiven Effekt der hydrolysierten Säuglingsmilch erkennen (Knip et al., 2010).

Auch die frühe Gabe von Früchten, Beeren und Wurzelgemüse wurde sowohl in der finnischen DIPP (*Diabetes Prediction and Prevention*) Studie (Virtanen et al., 2006), als auch in der amerikanischen DAISY (*Diabetes Autoimmunity Study in the Young*) Studie (Frederiksen et al., 2013a) mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko in Verbindung gebracht. Die untersuchten Kinder hatten allerdings alle ein genetisch erhöhtes Risiko. Die Autoren

vermuteten, dass enthaltene Giftstoffe und die hohe Energieaufnahme durch Früchte, oxidativen Stress in den β -Zellen verursacht und somit zur Induzierung der Inselautoimmunität führen.

Als potentiell wichtigster Ernährungsfaktor hinsichtlich einer protektiven Wirkung wird das fettlösliche Vitamin D eingestuft. Sowohl ein Mangel an Vitamin D, als auch unzureichende Supplementation während Schwangerschaft und Kindheit sind mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes assoziiert (Hyppönen et al., 2001, Sørensen et al., 2012, Gorham et al., 2012). Vitamin D und dessen Rolle im Autoimmunprozess bildet ein Hauptbestandteil der vorliegenden Arbeit und wird unter Punkt 2.4 ausführlich beschrieben.

In der Pathogenese des Typ-1-Diabetes wird immer wieder über Infektionen als mögliche Auslöser von Inselautoimmunität diskutiert. Besonders im Fokus stehen virale Infektionen mit Enteroviren (z.B. Coxsackie, Echovirus). Die Datenlage ist aber bis heute kontrovers. Im Gegensatz zur deutschen BABYDIAB (Füchtenbusch et al., 2001) und amerikanischen DAISY Studie (Graves et al., 2003), fanden finnische Wissenschaftler einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Inselautoantikörpern und vorausgegangen Infektionen mit Enteroviren (Laitinen et al., 2013). In der internationalen TEDDY (*The Environmental Determinants of Diabetes in the Young*) Studie, die ebenfalls Kinder mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes untersucht, zeigte sich in einer Fall-Kontroll-Studie kein Einfluss von Virusinfektionen auf einen rapiden Verlauf des Typ-1-Diabetes bei Kindern mit positiven Inselautoantikörpern (Lee et al., 2013).

Die sogenannte Hygiene-Hypothese, wonach Kontakt zu Viren und Bakterien in der Kindheit wichtig für die Entwicklung des Immunsystems ist und ein sauberes und keimreduziertes Umfeld als einen möglichen Faktor für die steigende Inzidenz des Typ-1-Diabetes annimmt (Bach und Chatenoud, 2012), konnte jedoch bislang nicht untermauert werden. Der Hypothese treten vor allem Studien entgegen, die einen signifikanten Zusammenhang von Infektionen in der frühen Kindheit und dem späteren Auftreten von Typ-1-Diabetes belegen. So zeigten Ergebnisse der BABYDIÄT Studie, dass besonders Infektionen der oberen Atemwege im Kindesalter mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes assoziiert sind (Beyerlein et al., 2013).

Neben Infektionen werden auch Impfungen als potentieller Risikofaktor für Typ-1-Diabetes und Inselautoimmunität in der Literatur genannt. Doch in bisherigen Studien konnte dafür kein kausaler Zusammenhang gefunden werden (Hummel et al., 2000, DeStefano et al., 2001, Hviid et al., 2004).

Die Rolle von Insulinresistenz in der prädiabetischen Phase

Bislang wird Insulinresistenz und die steigende Inzidenz von Übergewicht hauptsächlich mit der Pathogenese des Typ-2-Diabetes in Verbindung gebracht. Es gibt jedoch immer mehr Studien, die sowohl Übergewicht als auch Insulinresistenz als potentielle Risikofaktoren für einen Typ-1-Diabetes einstufen (Wilkin, 2001, Furlanos et al., 2004). Jedoch scheint gerade im Hinblick auf die Progression zu Typ-1-Diabetes Übergewicht an sich nur eine untergeordnete Rolle zu spielen. So wurde in der BABYDIAB Studie eindeutig gezeigt, dass der BMI (*body mass index*) in Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern nicht unterschiedlich war (Winkler et al., 2009). Die Kinder dieser Studie (Winkler et al., 2009), sowie die untersuchten Teilnehmer anderer Studien (Furlanos et al., 2004, Xu et al., 2007, Bingley et al., 2008), bei denen eine erhöhte Insulinresistenz mit einem gesteigertem Typ-1-Diabetesrisiko assoziiert war, waren normalgewichtig. Der Fokus liegt daher momentan auf einer sinkenden Insulinsensitivität in Inselautoantikörper-positiven Personen, besonders wenn gleichzeitig die β -Zellfunktion abnimmt (Furlanos et al., 2004, Xu et al., 2007, Bingley et al., 2008). So wurde in der ENDIT (*European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial*) Studie gezeigt, dass das Risiko für die Progression zum Typ-1-Diabetes signifikant mit der Insulinsekretion nach intravenöser Glukosebelastung, Anzahl der Inselautoantikörper und mit dem 120 min Glukosewert nach oraler Glukosebelastung assoziiert war. Bei Patienten mit einer verminderten Insulinantwort nach ivGTT (intravenöser Glukosetoleranztest) waren Insulinresistenz (gemessen durch HOMA-IR), die Anzahl zusätzlicher Inselautoantikörper und der 120 min Glukosewert unabhängige Marker für das Progressions-Risiko (Bingley et al., 2008).

Im Tiermodell konnte ebenfalls gezeigt werden, dass eine Insulinresistenz dem Ausbruch eines Typ-1-Diabetes vorausging. Im NOD-Mausmodell trat Hyperinsulinämie vor der klinischen Manifestation auf (Amrani et al., 1998) und Medikamente gegen Insulinresistenz konnten erfolgreich die Neuerkrankungsrate senken (Beales und Pozzilli, 2002).

Der Anstieg der Insulinresistenz per se, insbesondere in der Kindheit und während der Pubertät, gilt als physiologisch (Moran et al., 1999, Jeffery et al., 2012) und wird hauptsächlich durch steigende Körperfettmasse und Wachstums-, sowie Sexualhormone erklärt (Cook et al., 1993, Travers et al., 1995, Roemmich et al., 2002). In der Pubertät erreicht die Insulinresistenz die höchsten Werte und fällt danach wieder ab (Amiel et al., 1986, Cook et al., 1993, Travers et al., 1995, Moran et al., 1999). Interessanterweise ist in der Phase der stärksten physiologischen Insulinresistenz auch die Inzidenz des Typ-1-Diabetes am höchsten, was die Rolle von Insulinresistenz in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes

unterstreicht. Bislang gibt es jedoch noch keine Studie, die den Verlauf der Insulinresistenz von prädiabetischen Kindern, gesunden Kindern ohne Inselautoimmunität gegenüberstellt.

2.4 Vitamin D

Das fettlösliche Vitamin D nimmt in der Reihe der Vitamine eine Sonderstellung ein, da es nur bedingt essentiell ist und im Körper endogen gebildet werden kann. Man unterscheidet das mit der Nahrung zugeführte Vitamin D in pflanzliches Vitamin D₂ (Ergocalciferol) und tierisches Vitamin D₃ (Cholecalciferol). Gute Vitamin D-Quellen sind fettreicher Fisch (Hering, Makrele), aber auch Leber, Eigelb und einige Speisepilze (Souci et al., 2008). Jedoch kann die empfohlene Zufuhr von 20 µg/Tag über die übliche Ernährung nur schwer erreicht werden, so dass sowohl die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE), als auch die Europäische Gesellschaft für pädiatrische Gastroenterologie, Hepatologie und Ernährung (ESPGHAN) eine Supplementation für alle empfiehlt, die nicht genug Vitamin D endogen produzieren (D-A-CH, 2013, Braegger et al., 2013). Zu diesen Risikogruppen gehören u.a. gestillte Kinder, die keine zusätzliche adäquate (=400 IU Vitamin D pro Tag) Supplementation erhalten, Kinder und Jugendliche mit dunkler Hautfarbe, die in nördlichen Regionen leben, Kinder und Jugendliche mit unzureichender Sonnenexposition und übergewichtige Kinder (Braegger et al., 2013). Die neuen Empfehlungen basieren auf Studien, die zeigten das in Deutschland Erwachsene nur durchschnittlich 3 µg/Tag (MRI, 2008) und Kinder sogar nur ca. 2 µg/Tag Vitamin D mit der Nahrung zu sich nahmen (Mensink et al., 2007). Es wird vermutet, dass hierzulande ca. 80 bis 90 % des Vitamin D endogen durch Sonnenlicht in der Haut synthetisiert wird und nur ein kleiner Teil aus der Nahrung stammt (Holick, 2007).

Vitamin D entsteht in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol (7-DHC), welches über eine Zwischenstufe zu Vitamin D₃ umgewandelt wird (Abb. 2). Die Syntheserate hängt wesentlich von der Dauer der UV-B-Exposition, der Hautfarbe, sowie der Beschaffenheit der Epidermis ab (Holick et al., 1980, Bikle et al., 1986). So produzieren Menschen mit dunkler Hautfarbe bei gleicher UV-B-Strahlung weniger Vitamin D als Menschen mit heller Haut (Zhang und Naughton, 2010). Das Vitamin D₃ gelangt durch Kopplung an das Vitamin D-bindende Protein (DBP) in die Leber und wird anschließend hydroxyliert, wobei Calcidiol (25(OH)D₃) entsteht (Holick, 2007). Katalysiert wird die Reaktion von einer Cytochrom P450 (CYP)-abhängigen Hydroxylase. Vitamin D₃ kann im Fettgewebe und der Skelettmuskulatur gespeichert werden und trägt somit zur Aufrechterhaltung der 25(OH)D₃-Konzentration im

Blut bei (Holick, 2007). Die Calcidiol-Synthese ist nur unzureichend reguliert, so dass sich der Wert an Calcidiol im Blut proportional zur Vitamin D-Aufnahme (über Nahrung oder Sonnenexposition) verhält. Daher gilt die Messung von Calcidiol als zuverlässigster Indikator, um den Vitamin D-Status des Körpers zu bestimmen (Dusso et al., 2005, Norman, 2008). Im proximalen Nierentubulus unterliegt Calcidiol erneut einer Hydroxylierung durch die 1α -Hydroxylase und es entsteht das biologisch wirksame Calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Dieser Vorgang unterliegt einer genauen Regulation: Calcium und Phosphat hemmen, Parathormon (PTH) hingegen induziert die Bildung (Holick, 2007). Neben der Niere sind u.a. auch Makrophagen, Osteoblasten, Monozyten, Makrophagen und Keratinozyten durch Expression des Gens *CYP27B1*, welches für die 1α -Hydroxylase kodiert, in der Lage Calcitriol zu synthetisieren (Bikle et al., 1994, Lehmann et al., 1999). Der Abbau erfolgt in der Niere durch eine 24-Hydroxylase zur wasserlöslichen Calcitrinsäure, die mit dem Urin ausgeschieden wird (Holick, 2007).

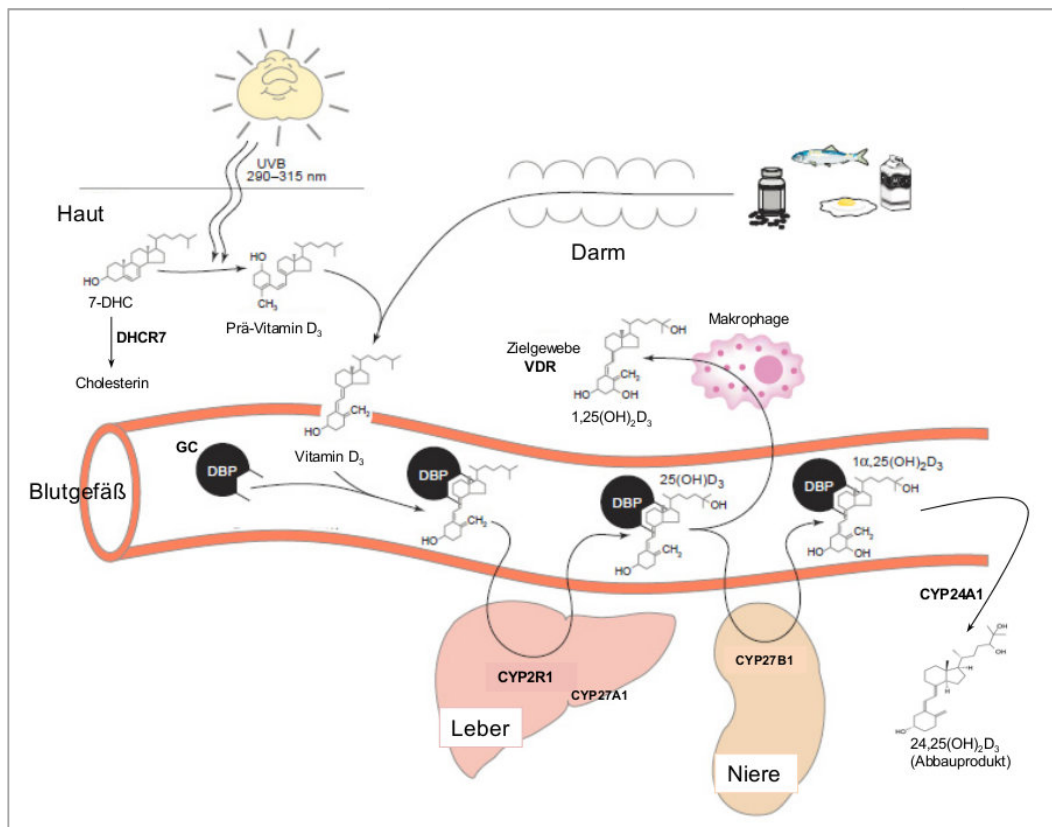


Abb. 2: Schematische Darstellung des Vitamin D-Metabolismus (*modifiziert nach Mathieu und Badenhop, 2005*).

2.4.1 Klassische Funktionen

Vitamin D ist maßgebend an der Regulation des Phosphat- und Calciumhaushalts beteiligt. Auf Gen-Expressionsebene wirkt Calcitriol über Bindung an den Vitamin D-Rezeptor (VDR). Dieser Komplex bindet zusammen mit Retinoidrezeptoren an bestimmte Genabschnitte (Vitamin D-Response-Elemente, VDRE), um somit die Expression bestimmter Gene zu hemmen oder zu induzieren (Borges et al., 2011).

Im Darm (Jejunum und Ileum) steigert Calcitriol die Aufnahme von Calcium ins Blut durch Bindung an membranständige Rezeptoren, was eine Öffnung der Calciumkanäle zur Folge hat. Weiterhin fördern hohe Calcitriol-Konzentrationen die Phosphatabsorption im Darm. In der Niere fördert Calcitriol die tubuläre Reabsorption von Calcium und Phosphat aus dem Primärharn und ermöglicht somit die Remineralisierung des Knochens. In der Nebenschilddrüse hemmt Calcitriol die Freisetzung und Synthese von PTH. Im Knochen kann Calcitriol sowohl direkt über Osteoblasten die Knochenmineralisation fördern, aber auch bei einem Abfall des Calciumspiegels im Plasma indirekt die Calciumfreisetzung aus dem Knochen stimulieren (Ströhle et al., 2011).

Ein Mangel an Vitamin D kann im Säuglings- und Kleinkindalter zur Rachitis führen, die gekennzeichnet ist durch eine Mineralisierungsstörung des Knochens mit Deformierungen des Skeletts, herabgesetzte Muskelkraft, verminderter Muskeltonus und erhöhte Infektanfälligkeit (Holick, 2007). Im Erwachsenenalter kann ein Vitamin D-Mangel Osteomalazie hervorrufen, einhergehend mit einer Demineralisierung des Knochens, Spontanfrakturen, Schmerzen des gesamten Skeletts und Myopathien. Eine unzureichende Vitamin D-Versorgung trägt im Alter auch zur Entstehung von Osteoporose bei (Elmadfa und Leitzmann, 2004).

2.4.2 Genetik des Vitamin D-Metabolismus und Assoziationen mit Typ-1-Diabetes

Der Vitamin D-Status eines Individuums hängt zum einem stark von der UV-B-Exposition ab (siehe Punkt 2.4), andererseits zeigten verschiedene Studien auch eine Vererbbarkeitsrate von 29 % (Shea et al., 2009) bis 43 % (Hunter et al., 2001). Dies lässt Rückschlüsse zu, dass der Vitamin D-Status genetisch determiniert sein muss. In einer 2010 durchgeführten genomweiten Assoziationsstudie mit ca. 30 000 Teilnehmern (europäischer Herkunft) waren 4 Genloci aus dem Vitamin D-Metabolismus mit dem Vitamin D-Status assoziiert: *GC rs2282679*, *DHCR7 rs12785878*, *CYP2R1 rs10741657* und *CYP24A1 rs6013897*; jedoch wurden keine Loci detektiert, die mit der Hautpigmentierung in Verbindung stehen (Wang et al., 2010). In einer weiteren Studie konnten die Ergebnisse für *GC*, *DHCR7* und *CYP2R1* bestätigt werden (Ahn et al., 2010). Cooper et al. (2011) fanden in einer weiteren großen

Studie nicht nur Assoziationen mit dem Vitamin D-Status, sondern auch mit Typ-1-Diabetes. Bei 2600 gesunden Kontrollpersonen hatten Variationen der Gene *GC*, *DHCR7*, *CYP2R1* und *CYP24A1* einen starken Einfluss auf den Vitamin D-Status und *CYP27B1*, *DHCR7* und *CYP2R1* waren mit dem Auftreten von Typ-1-Diabetes assoziiert.

Alle bisher genannten Varianten sind in der Nähe oder innerhalb von Genloci lokalisiert, die in den Vitamin D-Metabolismus involviert sind. Die bislang am häufigsten untersuchten Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Genloci umfassen:

CYP24A1: Das Gen kodiert für eine Cytochrom P450-abhängige 24-Hydroxylase, die an der Initialisierung des Abbaus und somit an der Inaktivierung von Calcitriol beteiligt ist. In zwei großen Assoziationsstudien waren bestimmte SNPs des Gens mit einem erniedrigten 25(OH)D-Spiegel assoziiert (Wang et al., 2010, Cooper et al., 2011).

CYP27A1: Das Gen kodiert für eine Cytochrom P450-abhängige Oxidase (Sterol-26-Hydroxylase), welche im Vitamin D-Stoffwechsel an der Hydroxylierung von Vitamin D₃ zu Calcidiol beteiligt ist, wobei aber *in vivo* *CYP2R1* bei diesem Vorgang die Hauptfunktion übernimmt (Schuster, 2011). *CYP27A1* wird hauptsächlich in der Leber exprimiert, mit der Funktion dort Cholesterin zu Gallensäuren abzubauen. Bisher konnten Studien noch keine Assoziation mit dem Vitamin D-Status feststellen (Wang et al., 2010, Ahn et al., 2010).

CYP27B1: Die 1 α -Hydroxylase, wofür dieses Gen kodiert, ist maßgebend an der Überführung des Vitamin D zu seiner biologisch aktiven Form (Calcitriol) beteiligt (Schuster, 2011). Varianten des Gens wurden mit verschiedenen Autoimmunerkrankungen in Verbindung gebracht, wie z.B. Typ-1-Diabetes (Ramos-Lopez et al., 2004a, Cooper et al., 2011), Hashimoto Thyreoiditis und Morbus Basedow (Pani et al., 2002, Ramos-Lopez et al., 2004b). Was die Assoziation mit dem Vitamin D-Spiegel angeht, so ist die Datenlage kontrovers. Einige Studien mit relativ geringen Fallzahlen zeigten, dass verschiedene SNPs mit 25(OH)D-Konzentrationen assoziiert waren (Orton et al., 2008, Ramos-Lopez et al., 2008), eine große Assoziationsstudie konnte diese Befunde jedoch nicht bestätigen (Cooper et al., 2011).

CYP2R1: Der Genlocus kodiert für eine hepatische mikrosomale Hydroxylase, mit der Hauptaufgabe Vitamin D₃ zu Calcidiol zu hydroxylieren (Schuster, 2011). Das Enzym weist die höchste Affinität (Shinkyo et al., 2004) und Spezifität (Cheng

et al., 2003) für Vitamin D auf und ein genetischer Defekt im Gen verursacht eine erblich bedingte Rachitis (Cheng et al., 2004). In verschiedenen Studien waren SNPs des Gens sowohl mit einem Vitamin D-Mangel (Wang et al., 2010, Ahn et al., 2010, Cooper et al., 2011) als auch mit Typ-1-Diabetes assoziiert (Ramos-Lopez et al., 2007, Cooper et al., 2011). In der Studie von Cooper et al. (2011) waren die Allele der untersuchten SNPs, die mit einem erniedrigten Vitamin D-Spiegel assoziiert waren, gleichzeitig auch mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko verbunden.

DHCR7: Das Gen ist ein relativ neuer Locus für eine Assoziation mit dem Vitamin D-Spiegel. Es kodiert für eine Reduktase, die in den Vitamin D-Metabolismus per se nur indirekt involviert ist, da das Enzym das Ausgangssubstrat für Vitamin D₃ (7-Dehydrocholesterol) zu Cholesterin synthetisiert (Waterham und Wanders, 2000). Es wurde gezeigt, dass Mutationen des Gens zu einer gestörten Aktivität des Enzyms führen, mit gleichzeitiger Anreicherung von 7-Dehydrocholesterol in der Haut und einem niedrigeren Cholesterinspiegel, was zur Erkrankung „Smith-Lemli-Opitz-Syndrom“ führt (Waterham und Wanders, 2000). *DHCR7* wurde erstmals in Studien von Ahn et al. (2010) und Wang et al. (2010) mit dem Vitamin D-Status in gesunden Personen in Verbindung gebracht, was Rückschlüsse zulässt, dass *DHCR7* eine größere Rolle im Vitamin D-Metabolismus haben könnte, als bisher vermutet. Cooper et al. (2011) zeigten neben der Assoziation mit Vitamin D auch einen Zusammenhang mit Typ-1-Diabetes.

GC: Das *GC* Gen kodiert für das Vitamin D-bindende Protein (DBP, oder auch *group-specific component*). Es ist das am meist untersuchte Gen im Hinblick auf den Vitamin D-Metabolismus. Da das zirkulierende Vitamin D zu 80-90 % an DBP gebunden ist (Zerwekh, 2008), zeigten verschiedene Studien starke Assoziationen von Varianten im *GC* Gen mit 25(OH)D-Spiegeln im Blut (Sinotte et al., 2009, Wang et al., 2010, Ahn et al., 2010, Cooper et al., 2011).

VDR: Über den intrazellulären nukleären Vitamin D-Rezeptor (VDR) kann das biologisch aktive Calcitriol seine Wirkung ausüben. Mutationen im *VDR* Gen (*TaqI*, *BsmI*, *ApaI*, *FokI*) wurden mit einigen Autoimmunerkrankungen, u.a. Typ-1-Diabetes, in Verbindung gebracht (Pani et al., 2000, Fassbender et al., 2002, Wolden-Kirk et al., 2012), da der VDR in nahezu allen Zellen (u.a.

Monozyten, Makrophagen, dendritische Zellen (DCs), CD4+ und CD8+ T-Zellen) des Immunsystems exprimiert wird (Wolden-Kirk et al., 2011). Außerdem hat man festgestellt, dass der VDR ebenfalls in β -Zellen exprimiert wird (Clark et al., 1980, Johnson et al., 1994), was die physiologische Rolle von Vitamin D in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes unterstreicht. Jedoch zeigen aktuelle Assoziationsstudien mit Varianten im *VDR* Gen hinsichtlich Typ-1-Diabetes kontroverse Ergebnisse (Kahles et al., 2009, Zhang et al., 2012). Weiterhin fanden auch Cooper et al. (2011) weder einen Effekt von SNPs des *VDR* Gens auf die Vitamin D-Spiegel, noch auf das Typ-1-Diabetesrisiko.

2.4.3 Effekte von Vitamin D auf das Immunsystem

Vitamin D, insbesondere Calcitriol, gilt als potenter Modulator des Immunsystems (Baeke et al., 2010). Der VDR wird in nahezu allen Zellen des Immunsystems exprimiert (siehe Punkt 2.4.2) und aktivierte Makrophagen und DCs sind in der Lage Calcitriol, durch Expression des *CYP27B1* Gens zu synthetisieren (Hewison et al., 2003). Calcitriol hat sowohl Effekte auf angeborene als auch auf die erworbene Immunität. Im Zuge der Infektabwehr fördert es die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen und erhöht deren Fähigkeit zu Chemotaxis und Phagozytose und fördert die Synthese von antimikrobiell wirksamen Peptiden (Cathelicidine) (Wolden-Kirk et al., 2011). Es wurde gezeigt, dass in Anwesenheit von Calcitriol die Reifung von DCs beeinflusst wird, in dem Zellen entstehen, die weniger MHC (*Major Histocompatibility Complex*)-Klasse II Moleküle exprimieren (Mathieu und Badenhoop, 2005). Diese Moleküle sind wiederum notwendig, um eine T-Zellaktivierung und somit eine Immunaktivierung zu induzieren. Weiterhin war die Proliferation von autoreaktiven T-Zellen in Anwesenheit von Calcitriol-behandelten DCs erniedrigt (Halteren et al., 2002). Calcitriol konnte ebenfalls erfolgreich die Produktion von Zytokinen hemmen, die zu einer T-Zellaktivierung führen. Besonders die Inhibierung von IL-12 führte zu einer Verschiebung der Th1 zur Th2-Antwort des Immunsystems (D'Ambrosio et al., 1998). Verstärkend kann Calcitriol direkt auf T-Zell-Zytokine wirken, in dem es Th1-Zytokine (z.B. IL-2, IFN- γ) inhibiert und die Produktion von Th2-Zytokinen stimuliert (Mathieu und Badenhoop, 2005) (Abb. 3).

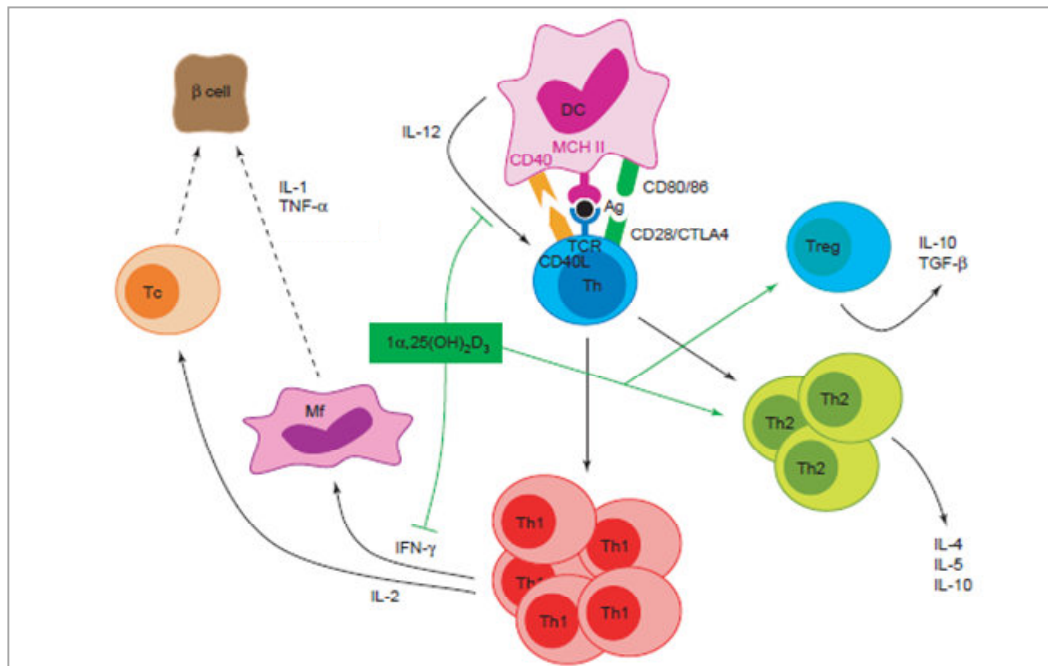


Abb. 3: Immunmodulatorische Effekte von Calcitriol.

β cell: pankreatische β-Zelle, *Ag*: Antigen, *Mf*: Makrophage, *Treg*: regulatorische T-Zelle, *TCR*: T-Zellrezeptor, *Tc*: zytotoxische T-Zelle. (Quelle: Mathieu und Badenhoop, 2005).

2.4.4 Einfluss von Vitamin D auf β-Zellfunktion und Insulinresistenz

Es existiert eine starke Evidenz, dass ein Vitamin D-Mangel mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes assoziiert ist. In der Literatur gibt es zahlreiche Studien, die zeigen, dass Menschen mit Typ-2-Diabetes signifikant geringere Vitamin D-Konzentrationen im Blut aufweisen, als gesunde Kontrollpersonen (Scragg et al., 1995, Baynes et al., 1997, Scragg et al., 2004). Die Ergebnisse einer Metaanalyse bestätigten die inverse Assoziation zwischen 25(OH)D-Konzentrationen und der Prävalenz des Typ-2-Diabetes (Pittas et al., 2007). Unabhängig vom Typ-2-Diabetes, der immer noch am häufigsten mit Insulinresistenz und β-Zellfunktion assoziiert wird, wurde in großen Querschnittsstudien, wie der NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*) III Studie (>14 000 Teilnehmer) ein signifikanter Zusammenhang zwischen einem hohen Vitamin D-Spiegel und erniedrigter Insulinresistenz gefunden (Chonchol und Scragg, 2007). Eine weitere interessante Beobachtung war, dass der Blutzucker genau wie auch Vitamin D jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt (Behall et al., 1984, Ishii et al., 2001). Tierstudien und *in vitro* Modelle tragen dazu bei, die funktionelle Rolle des Vitamin D in der Glukosehomöostase und seinen Einfluss auf Insulinsekretion und Insulinsensitivität zu bekräftigen. So zeigten Tiere, die einen Vitamin D-Mangel aufwiesen, eine gestörte Insulinsekretion, eine Supplementation mit Vitamin D konnte diesen Effekt rückgängig machen (Cade und Norman, 1986, Norman et al., 1980, Clark et al., 1981, Nyomba et al., 1984). Im NOD-Mausmodell führte ein

Vitamin D-Mangel zu einer gestörten Glukosetoleranz, verminderten Insulinsekretion *in vitro* und insgesamt zu einer gesteigerten Krankheitsinzidenz (Giulietti et al., 2004).

Eine mögliche Schlüsselstelle in den zugrundeliegenden Mechanismen ist das Vorhandensein des VDRs in pankreatischen β -Zellen (Johnson et al., 1994). So zeigten Mäuse mit einer Mutation im *VDR* Gen, was einen dysfunktionalen VDR zur Folge hatte, eine gestörte Insulinsekretion und eine geringere Glukosetoleranz (Zeitzi et al., 2003). Auch in Humanstudien fand man Assoziationen bestimmter *VDR* Mutationen mit Nüchtern-Glukose und Insulinresistenz (Oh und Barrett-Connor, 2002, Ortlepp et al., 2003). Weitere Effekte von Vitamin D könnten auf der Expression von *CYP27B1* in β -Zellen (Bland et al., 2004) und dem Vorhandensein des VDREs in der Promotorregion des Insulin Gens beruhen (Maestro et al., 2003). Weiterhin wird vermutet, dass Vitamin D seinen Einfluss auf Insulinsekretion und -sensitivität über intrazelluläres Calcium ausübt (Alvarez und Ashraf, 2010). Durch einen Vitamin D-Mangel steigt der PTH-Spiegel an, was einen erhöhten Calciumspiegel zur Folge hat. Erhöhtes intrazelluläres Calcium verhindert z.B. die Bindung des Insulins an den GLUT4-Transporter, wodurch Glukose nicht in die Zelle gelangen kann. Weiterhin benötigen β -Zellen für die Insulinsekretion einen schlagartigen Anstieg des intrazellulären Calciumspiegels, dies kann durch eine bereits schon vorhandene hohe Konzentration an Calcium im Zytosol verhindert werden (Alvarez und Ashraf, 2010).

2.4.5 Vitamin D in der Prävention des Typ-1-Diabetes

Der Zusammenhang zwischen Vitamin D-Mangel und dem Risiko für Typ-1-Diabetes wird schon sehr lange diskutiert. Bereits Anfang der 90er Jahre berichteten Baumgartl et al. (1991), dass bei Patienten mit einem neu manifestierten Typ-1-Diabetes die Vitamin D-Spiegel signifikant niedriger waren als bei gesunden Kontrollpersonen. Dieser Befund wurde inzwischen mehrmals von anderen Arbeitsgruppen bestätigt (Pozzilli et al., 2005, Littorin et al., 2006).

Die bereits unter Punkt 2.4.2 und 2.4.3 beschriebenen genetischen Assoziationen und immunmodulatorischen Funktionen des Vitamin D bekräftigen seine Rolle in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes. In epidemiologischen Studien wurde sowohl der Mangel an Vitamin D (Gorham et al., 2012), als auch die unzureichende Zufuhr durch Nahrung und fehlende Supplementation in der Kindheit mit einem gesteigerten Typ-1-Diabetesrisiko in Verbindung gebracht (EURODIAB-Study-Group, 1999, Hyppönen et al., 2001). In einer Fall-Kontroll-Studie von Gorham et al. (2012) war die Prävalenz für Typ-1-Diabetes am höchsten in der Gruppe, mit den niedrigsten Vitamin D-Spiegeln vor Diabetesmanifestation. Die finnische

DIPP Studie macht deutlich, welches Potential Vitamin D in der Diabetesprävention haben könnte: Kinder mit einem hohem genetischen Risiko, die täglich die empfohlene Dosis von 2000 IU ($\cong 50 \mu\text{g}$) Vitamin D erhielten, hatten ein bis zu 88 % geringeres Risiko einen Typ-1-Diabetes zu entwickeln, im Vergleich zu Kindern die keine Supplemente bekamen (Hyppönen et al., 2001). Die Inzidenzrate wurde nochmals signifikant gesenkt, wenn die Kinder ≥ 2000 IU erhielten. Dieser Befund lässt Rückschlüsse auf einen dosis-abhängigen Effekt von Vitamin D zu. Es gibt jedoch auch Studien, die diesen deutlichen Effekt nicht bestätigen konnten (Simpson et al., 2011). Brekke und Ludvigsson (2007) fanden keinen überzeugenden Zusammenhang zwischen einer Supplementation in der Kindheit und dem Auftreten von Inselautoantikörpern. Ebenfalls nicht überzeugend ist die Datenlage hinsichtlich einer ausreichenden Vitamin D-Versorgung in der Schwangerschaft. Zwar wurde in einer aktuellen Studie von Sørensen et al. (2012) gezeigt, dass für Kinder von Müttern, die in der Schwangerschaft einen niedrigeren Vitamin D-Spiegel hatten, ein erhöhtes Typ-1-Diabetesrisiko bestand, so fehlen jedoch Studien, die dieses Ergebnis bestätigen. In der Studie von Brekke und Ludvigsson (2007) deutete sich zwar an, dass ein geringeres Risiko für das Auftreten von Inselautoantikörpern in einjährigen Kindern vorlag, deren Mütter in der Schwangerschaft Vitamin D-Supplemente einnahmen. Dieser Effekt war jedoch bereits 2,5 Jahre nach Entbindung verschwunden. In der DIPP Studie war ebenfalls kein Zusammenhang zwischen Vitamin D-Zufuhr in der Schwangerschaft und späterem Auftreten von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes feststellbar (Marjamäki et al., 2010).

Die existierenden Daten lassen vermuten, dass der vielversprechendste Effekt einer Vitamin D-Supplementation in der Prävention des Typ-1-Diabetes liegt, anstatt in bereits erkrankten Personen. Eine Supplementation mit Calcitriol bei neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten hatte keinen Einfluss auf die β -Zellrestfunktion und konnte nicht dazu beitragen, den Insulinbedarf zu verringern (Pitocco et al., 2006, Bizzarri et al., 2010, Walter et al., 2010).

3. Methoden

3.1 Studienpopulationen

Anhand von vier unterschiedlichen Kohorten wurden die Fragestellungen der vorliegenden Dissertation untersucht: Die Geburtskohorten BABYDIAB und BABYDIÄT, die Teenagerkohorte TEENDIAB, sowie die Kohorte von Kindern und Jugendlichen mit neu manifestiertem Typ-1-Diabetes der bayerischen Diabetesregisterstudie DiMelli. Während die Kohorten BABYDIAB, BABYDIÄT und DiMelli bereits etabliert waren und die eingelagerten Bioproben für die Dissertation zur Verfügung standen, wurde die TEENDIAB Kohorte im Rahmen dieser Dissertation aufgebaut, einschließlich aktiver Mitarbeit bei Rekrutierung, Datenerhebung und Sammlung der Bioproben. Nachfolgend werden die Studien beschrieben.

3.1.1 BABYDIAB Studie

Die BABYDIAB Studie ist eine deutschlandweite, prospektive Verlaufsbeobachtungsstudie, die seit 1989 durchgeführt wird (Ziegler et al., 1999, Hummel et al., 2004). Zwischen 1989 und 2000 wurden 1650 Nachkommen (810 Mädchen und 840 Jungen) von Müttern und/ oder Vätern mit Typ-1-Diabetes in die Studie eingeschlossen; diese werden inzwischen über einen Zeitraum von mehr als 20 Lebensjahren nachuntersucht. Ziele der BABYDIAB Studie sind es, den Zeitpunkt des ersten Auftretens und die Entstehungsphase von Inselautoimmunität näher zu charakterisieren, sowie die Evaluation von genetischen Risikomarkern und Umweltfaktoren, welche die Progression der Erkrankung vom Beginn der Inselautoimmunität bis zum Auftreten eines klinisch manifesten Typ-1-Diabetes determinieren. Im Rahmen der Studie werden bei Geburt, im Alter von 9 Monaten und bei 2, 5, 8, 11, 14, 17 und 20 Lebensjahren Blutproben u.a. zur Bestimmung der Inselautoantikörper gegen Insulin, GAD, IA-2 und ZnT8 entnommen. Kinder, die Inselautoantikörper entwickeln, werden in kleineren Intervallen von einem halben bis einem Jahr nachuntersucht. Informationen zu anthropometrischen Daten, Ernährung und weiteren Umweltfaktoren werden mit Hilfe von Fragebögen zu jeder Untersuchung erhoben. Endpunkte der BABYDIAB Studie sind die Entwicklung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes.

Bei Kindern mit positiven Inselautoantikörpern wird einmal pro Jahr ein oraler Glukosetoleranztest (oGTT) durchgeführt. Weiterhin werden die Studienteilnehmer über Symptome, die bei Manifestation eines Typ-1-Diabetes auftreten geschult und gebeten, das Auftreten von Diabetes-assoziierten Symptomen zu dokumentieren. Ein Typ-1-Diabetes wird

nach Kriterien der ADA diagnostiziert (National-Diabetes-Data-Group, 1979, The-Expert-Committee-on-the-Diagnosis-and-Classification-of-Diabetes-Mellitus, 2003).

Bisher entwickelten 157 Kinder Inselautoantikörper und 64 Kinder einen manifesten Typ-1-Diabetes.

Die Genehmigung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission von Bayern (Bayerische Landesärztekammer Nr. 95357).

3.1.2 BABYDIÄT Studie

Die BABYDIÄT Studie ist eine Primärpräventionsstudie und prospektive Verlaufsbeobachtungsstudie, für die zwischen 2000 und 2006 deutschlandweit insgesamt 1.168 Neugeborene von Müttern, Vätern und Geschwisterkindern mit Typ-1-Diabetes rekrutiert wurden. Davon wurden 150 Kinder mit den *HLA*-Risikogenotypen (*DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201/ DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302*; *DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302/ DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302* oder *DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201/ DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201*) in die Präventionsstudie, bestehend aus einer Ernährungsintervention im ersten Lebensjahr, eingeschlossen (Schmid et al., 2004). Kinder ohne *HLA*-Risikogene konnten ohne Ernährungsintervention an der Studie teilnehmen. Es stellte sich heraus, dass die Ernährungsintervention keinen Einfluss auf die Entstehung von Inselautoimmunität hatte, sodass die Daten der BABYDIÄT Studie für die Analyse bezüglich anderer Umweltfaktoren genutzt werden können (Hummel et al., 2011). Alle Kinder der BABYDIÄT Studie werden regelmäßig nachuntersucht. Dabei werden Blut-, Urin- und Stuhlproben entnommen. Die Nachuntersuchungen finden dabei in der Interventionsgruppe 3- bis 6-monatlich und in der natürlichen Verlaufskohorte im Alter von 9 Monaten, 2 Jahren, und dann alle 3 Jahre statt. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt werden die Blutproben auf Inselautoantikörper untersucht. Von den 1168 Kindern haben bisher 63 Inselautoantikörper und 23 einen manifesten Typ-1-Diabetes entwickelt. Die Genehmigung der BABYDIÄT-Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München (Nr. 329/00).

3.1.3 TEENDIAB Studie

Die deutschlandweite, prospektive Verlaufsbeobachtungsstudie TEENDIAB rekrutiert seit 2009 Kinder im Alter zwischen 8 und 12 Jahren (Protokolländerung im September 2012: Einschlussalter 6 bis 10 Jahre) mit einem erstgradigen Verwandten mit Typ-1-Diabetes (Ziegler et al., 2012). Insgesamt sollen 1500 Kinder in die Studie eingeschlossen werden. Für

die Rekrutierung von Probanden aus ganz Deutschland werden gezielt Kinderärzte in Krankenhäusern, Diabetesambulanzen und diabetologischen Schwerpunktpraxen angeschrieben und über die Studie informiert. Dadurch konnte bislang ein Netzwerk von mehr als 135 kooperierenden Ärzten etabliert werden. Weitere Möglichkeiten der Rekrutierung ergeben sich aus dem Kontakt zu Selbsthilfegruppen und Diabetesberatern über verschiedene Printmedien, sowie über Internet, Radio und Fernsehen. Zu diesem Zweck wurden Artikel in Fachzeitschriften (Meier-Stiegen und Ziegler, 2011), aber auch in Laienzeitschriften wie z. B. dem „Diabetes-Journal“ veröffentlicht. Den kooperierenden Ärzten wird Informationsmaterial (Flyer, Poster) für ihre Praxis bzw. Ambulanz zur Verfügung gestellt. Interessierte Familien, welche auf die Studie aufmerksam werden, können sich telefonisch oder auf der Homepage informieren und das ausführliche Informationsmaterial und Einverständniserklärung für Eltern und Kinder anfordern. Nachdem das Einverständnis für die Studienteilnahme durch die Eltern erteilt wird, werden die Familien telefonisch kontaktiert und der Termin für die Einschlussuntersuchung am Studienzentrum vereinbart.

Das primäre Ziel der TEENDIAB Studie ist die Untersuchung der Frage, ob und ggfs. wie die Entwicklung von Inselautoimmunität während der frühen Pubertät durch genetische und umweltbedingte Faktoren beeinflusst wird. Es wird vermutet, dass diese Faktoren nicht mit denen übereinstimmen, die zur Entwicklung von Inselautoimmunität während der frühen Kindheit beitragen. Dazu zählen neben der Beantwortung der Frage, inwiefern Übergewicht und damit verbundene Faktoren die Entwicklung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes verstärken, u.a. auch die Charakterisierung der phänotypischen Ausprägung der Inselautoimmunität im frühen Jugendalter. Endpunkte der Studie stellen die Entwicklung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes dar. Bei den teilnehmenden Kindern werden bis zum 14. Lebensjahr halbjährlich, danach in jährlichen Abständen bis zur Vollendung des 18. Lebensjahres, Blut- und Stuhlproben gesammelt, sowie anthropometrische und soziodemografische Daten mittels Fragebögen erhoben. Bei Studieneintritt, sowie im Alter von 14 Jahren werden die Untersuchungen in einem der beiden Studienzentren (Forschergruppe Diabetes der TU München und Kinder- und Jugendkrankenhaus auf der Bult in Hannover) durchgeführt. Zu diesen Zeitpunkten wird zusätzlich das Ernährungsverhalten der Kinder retrospektiv mit Hilfe eines Ernährungsinterviews (ausführliche Beschreibung siehe Punkt 3.2) ermittelt. Alle weiteren Nachuntersuchungen übernimmt der behandelnde Kinder- oder Hausarzt. Im Verlauf der Studie wird in regelmäßigen Abständen ein oGTT durchgeführt, um die Funktion der pankreatischen β -Zellen zu überprüfen. Bei allen Studienteilnehmern werden

oGTTs bei Studieneintritt, mit 14 Jahren (in einem der beiden Studienzentren) sowie mit 16 und 18 Jahren (beim Haus- oder Kinderarzt bzw. in einem der beiden Studienzentren) durchgeführt. Bei Studienteilnehmern mit persistierend positiven Inselautoantikörpern in zwei aufeinander folgenden Proben, erfolgen die oGTTs in halbjährlichen Abständen.

Um eine gute Compliance der Studienteilnehmer zu erhalten, wurden verschiedene Maßnahmen ergriffen, wie z.B. altersgemäße Geschenke für die Kinder, das Angebot, Studienbesuche am Wochenende durchzuführen, ein jährlicher Newsletter, mit neuesten Ergebnissen für die teilnehmenden Familien, sowie die Etablierung eines zweiten Studienzentrums in Hannover, um lange Fahrtwege für die Studienteilnehmer zu vermeiden.

Die Genehmigung der TEENDIAB Studie erfolgte durch die Ethikkommissionen der Technischen Universität München (Nr. 2149/08) und der Medizinischen Hochschule Hannover (Nr. 5644).

3.1.4 DiMelli Studie

Die DiMelli Studie ist ein bayernweites Diabetesregister für alle Kinder und junge Erwachsene unter 20 Jahren, bei denen ein Diabetes nach Kriterien der ADA/WHO (The-Expert-Committee-on-the-Diagnosis-and-Classification-of-Diabetes-Mellitus, 2003) diagnostiziert wurde (Thümer et al., 2010). In die Studie werden Patienten mit allen Diabetesformen eingeschlossen, bei denen der Diagnosezeitpunkt nicht länger als 6 Monate zurück liegt und deren Wohnsitz in Bayern ist. Die Teilnehmer werden hauptsächlich durch Ärzte in Kinderkrankenhäusern und pädiatrischen Schwerpunktpraxen rekrutiert.

Ziel der 2009 gestarteten DiMelli Studie ist es, eine repräsentative Diabeteskohorte in Deutschland zu etablieren, um Inzidenzen und Trends des autoimmunen und nicht-autoimmunen Diabetes im Kindes- und jungen Erwachsenenalter zu erfassen, sowie die Häufigkeit von Typ-1- und Typ-2-Diabetes-assoziierten Genotypen, β -Zellfunktion und den Lipidmetabolismus zu charakterisieren.

Für den Einschluss in die Studie wird dem Patienten einmalig eine Blutprobe entnommen, sowie Informationen zu Anthropometrie, Demografie, Krankheitsgeschichte, Diabetesdiagnose und Medikation mittels Fragebögen erhoben.

Die Genehmigung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission von Bayern (Bayerische Landesärztekammer Nr. 08043).

3.1.5 Übersicht und Charakteristik der Studienpopulationen bezogen auf die untersuchten Fragestellungen

Analyse der Vitamin D-Spiegel, sowie deren Einfluss auf Erkrankungsprogression, β -Zellfunktion und Insulinresistenz

Der Vitamin D-Status (repräsentiert durch das biologisch inaktive 25(OH)D) wurde in insgesamt 514 Kindern der Typ-1-Diabetes-Risikokohorte bestimmt. Bei 327 Kindern der Risikokohorte konnte zusätzlich der Calcitriol-Spiegel bestimmt werden und bei 268 Kindern standen Daten der Vitamin D-Zufuhr über die Nahrung zur Verfügung (Abb. 4).

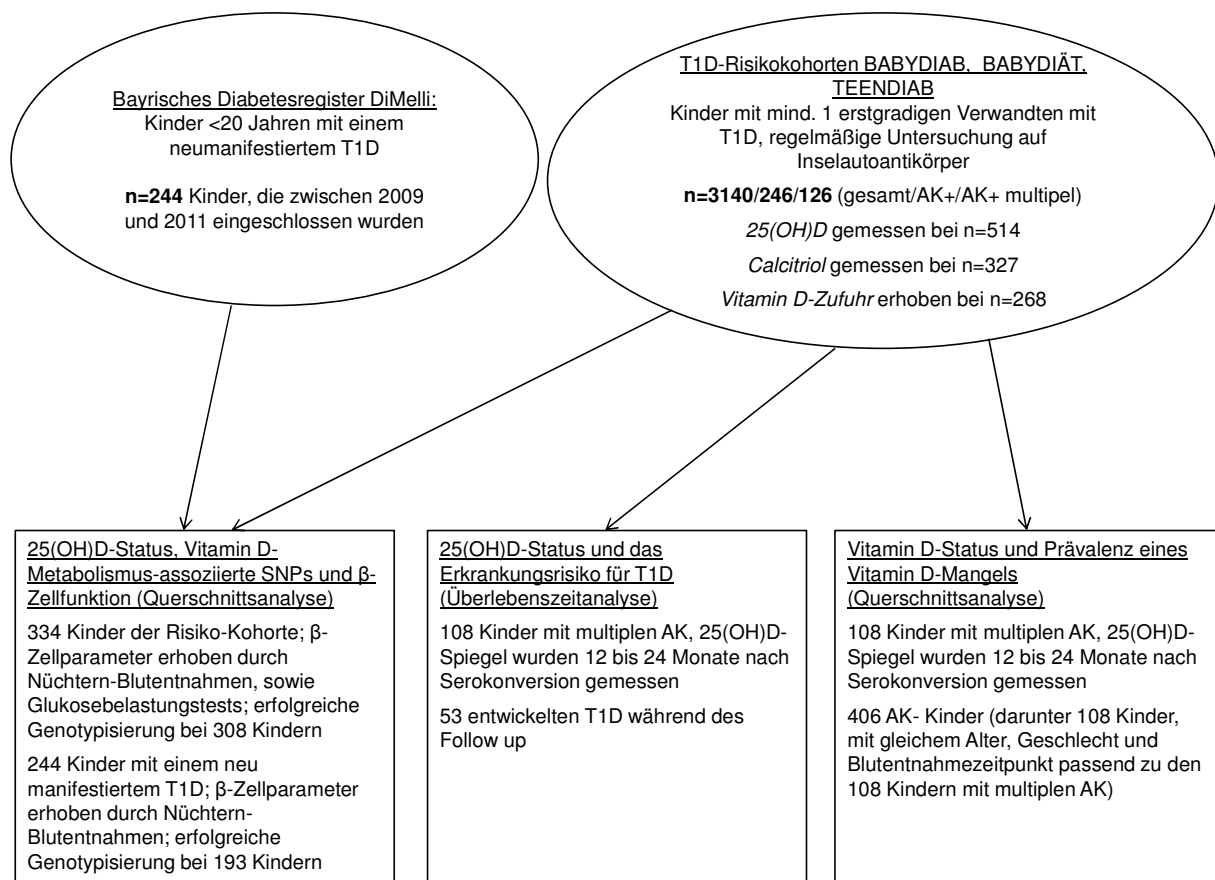


Abb. 4: Übersicht der verwendeten Studienpopulationen zur Analyse der Vitamin D-Spiegel und deren Einfluss auf Erkrankungsprogression und β -Zellfunktion/Insulinresistenz.

T1D: Typ-1-Diabetes, *AK+:* Inselautoantikörper-positiv, *AK-:* Inselautoantikörper-negativ.

Zur Bestimmung der Prävalenz eines Vitamin D-Mangels wurden in einer Querschnittsanalyse 108 Kinder (43 Mädchen, 65 Jungen) der Typ-1-Diabetes-Risikokohorte untersucht, die multiple, d.h. zwei oder mehr persistierende Inselautoantikörper aufwiesen. Die Konzentration an 25(OH)D im Plasma wurde einmalig in einer Blutprobe 12 bis 24 Monate nach Serokonversion (=erstes Auftreten von Inselautoantikörpern) bestimmt. Zwischen dem Zeitpunkt der Blutprobe und dem Zeitpunkt einer eventuellen Typ-1-

Diabetesdiagnose mussten mindestens 6 Monate liegen. Zum Vergleich wurden die 25(OH)D-Spiegel in 406 Inselautoantikörper-negativen Kindern bestimmt. Diese Gruppe setzte sich zusammen aus 108 Kindern, die passend zu den Inselautoantikörper-positiven Kindern das gleiche Geschlecht, Alter und die Blutentnahme zum selben Zeitpunkt und in der gleichen Jahreszeit hatten, sowie an der selben Studie teilnahmen. Bei den restlichen 298 Inselautoantikörper-negativen Kindern (150 Mädchen, 148 Jungen) wurden die Blutproben zur Vitamin D-Bestimmung größtenteils bei Studieneintritt (Eingangsuntersuchung) entnommen. Zusätzlich wurden die 25(OH)D-Konzentrationen in 244 (112 Mädchen, 132 Jungen) Kindern mit einem neu manifestierten Typ-1-Diabetes aus der DiMelli Studie bestimmt, die zwischen Dezember 2009 und Dezember 2011 in die Studie eingeschlossen wurden. Tab. 1 zeigt die Charakteristik der untersuchten Studienpopulationen.

Zur Einschätzung des Einflusses von Vitamin D-Status auf das Risiko für die Typ-1-Diabetes-Progressionsrate wurden die 108 Kinder mit ≥ 2 positiven Inselautoantikörpern über mehrere Jahre nachuntersucht. Im Laufe der Nachuntersuchungen (Follow up) entwickelten 53 Kinder einen manifesten Typ-1-Diabetes. Im Median vergingen 5,8 Jahre zwischen dem ersten Auftreten von Inselautoantikörpern und dem Ausbruch von Typ-1-Diabetes oder der letzten Kontaktaufnahme im Rahmen der Studie (Tab. 1).

Tab. 1: Charakteristik der Studienpopulationen zur Analyse der Prävalenz eines Vitamin D-Mangels

Kinder mit ≥ 2 Inselautoantikörpern (n=108)	
Geschlecht: weiblich, n (%)	43 (39,8)
Kaukasier, n (%)	105 (97,2)
BMI-SDS, Median (IQR)	0,08 (-0,67-0,91)
Alter bei Serokonversion [Jahre], Median (IQR)	2,3 (1,8-5,3)
Alter bei 25(OH)D-Messung [Jahre], Median (IQR)	3,9 (2,9-7,0)
Zeitpunkt der Blutentnahme: Mai bis Oktober, n (%)	51 (52,8)
Typ-1-Diabetes entwickelt, n (%)	53 (49,1)
Follow up-Zeit* [Jahre], Median (IQR)	5,8 (3,4-8,6)
Kinder ohne Inselautoantikörper (n=406)	
Geschlecht: weiblich, n (%)	194 (47,8)
Kaukasier, n (%)	399 (98,3)
BMI-SDS, Median (IQR)	-0,09 (-0,85-0,73)
Alter bei 25(OH)D-Messung [Jahre], Median (IQR)	9,9 (8,3-11,5)
Zeitpunkt der Blutentnahme: Mai bis Oktober, n (%)	244 (60,1)
Kinder mit Typ-1-Diabetes (n=244)	
Geschlecht: weiblich, n (%)	112 (45,9)
Kaukasier, n (%)	239 (98,0)
BMI-SDS, Median (IQR)	-0,37 (-1,12-0,68)
Diabetes Dauer [Monate], Median (IQR)	0,2 (0,1-0,4)
Alter bei 25(OH)D-Messung [Jahre], Median (IQR)	10,4 (7,3-13,6)
Zeitpunkt der Blutentnahme: Mai bis Oktober, n (%)	110 (45,1)

*Follow up-Zeit vom Zeitpunkt des erstmaligen Auftreten von Inselautoimmunität bis zur Manifestation des Typ-1-Diabetes oder letzter Kontakt im Rahmen der Studie
 IQR: Interquartilsabstand

Um den Einfluss von Vitamin D auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz zu analysieren, wurden 334 Kinder der Risikokohorte und 244 Kinder mit neu manifestiertem Typ-1-Diabetes untersucht, bei denen zusätzlich zum 25(OH)D-Gehalt auch metabolische Daten erhoben wurden (zum gleichen Zeitpunkt). Die Assoziationen zwischen dem biologisch aktiven Vitamin D-Metabolit Calcitriol und der β -Zellfunktion konnte nur in einer Subgruppe von 327 Kindern der Risikokohorte untersucht werden.

Die Analyse zur Bestimmung der Assoziationen zwischen Vitamin D, β -Zellfunktion, Insulinresistenz und Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs konnte wiederum nur bei 308/334 Kindern der Risikokohorte und bei 193/244 der Typ-1-Diabetespatienten

durchgeführt werden, da bei den übrigen Probanden keine DNA vorlag oder die Genotypisierung nicht erfolgreich durchgeführt werden konnte.

Entwicklung von Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter

Um den Verlauf der Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter bei Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko zu untersuchen, wurden 1848 Nüchtern-Blutproben von insgesamt 1177 Probanden, die zu verschiedenen Zeitpunkten zwischen dem 5. und 15. Lebensjahr entnommen wurden, auf Insulin und Glukose hin getestet. Bei 432 Kindern lagen Informationen zum Pubertätseintritt (Erreichen von Tannerstadium 2) vor (Abb. 5).

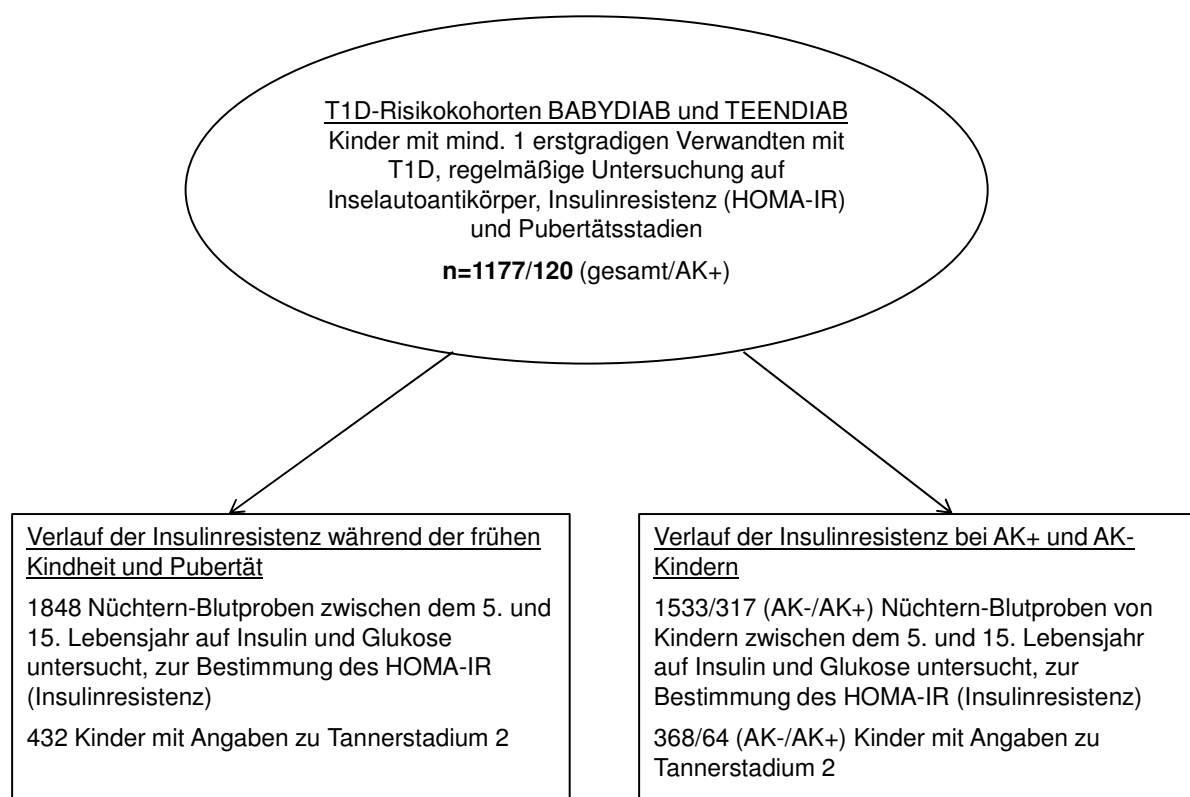


Abb. 5: Übersicht der verwendeten Studienpopulationen zur Analyse der Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter.

T1D: Typ-1-Diabetes, *AK+:* Inselautoantikörper-positiv, *AK-:* Inselautoantikörper-negativ.

3.2 Datenerhebung

3.2.1 Körpergröße und -gewicht

In den BABYDIAB und BABYDIÄT Studien wurden Daten zu Körpergröße und -gewicht der Kinder zu allen Untersuchungszeitpunkten mit Hilfe von Fragebögen erfasst oder aus den Vorsorgeuntersuchungsheften der Kinder entnommen.

Im Rahmen der Studieneingangsuntersuchung der TEENDIAB Studienteilnehmer wurden Körpergröße und -gewicht durch geschultes Fachpersonal mit Hilfe geeichter Stadiometer und Waagen ermittelt.

In der DiMelli Studie wurden Daten zu Größe und Gewicht anhand von Fragebögen erhoben, welche von Ärzten oder geschultem Personal zum Zeitpunkt der klinischen Untersuchung ausgefüllt wurden.

Aus Körpergröße und -gewicht wurde der BMI berechnet und als Perzentile (BMI-SDS), die alters- und geschlechtsspezifisch nach der deutschen Referenzpopulation nach Kromeyer-Hauschild et al. (2001) korrigiert wurde, dargestellt.

3.2.2 Pubertätsentwicklung

Die Entwicklung der Pubertät wurde in der BABYDIAB Studie ab dem Alter von 8 Jahren und in der TEENDIAB Studie während der Eingangsuntersuchung mit Hilfe von Fragebögen erhoben. Die Fragebögen enthielten neben Angaben zu Menarche und Stimmbruch validierte Zeichnungen zur Entwicklung der Schambehaarung, sowie Brustentwicklung bei den Mädchen und Entwicklung der männlichen Geschlechtsorgane bei den Jungen. Die Zeichnungen entsprechen der Einteilung gemäß der fünf Tannerstadien (Morris und Udry, 1980), wobei Tannerstadium 1 das präpubertäre (kindliche) Stadium und Tannerstadium 5 das adulte Entwicklungsstadium repräsentiert. Diese Einteilung wurde ausschließlich durch die behandelnden Ärzte vorgenommen. Für die Analysen wurde jeweils das höhere Stadium aus Entwicklung der Schambehaarung und der Brustentwicklung bzw. der Geschlechtsorgane herangezogen (Bsp. Tannerstadium 1 bei Schambehaarung und Tannerstadium 2 bei Brustentwicklung ergibt ein Gesamt-Tannerstadium von 2). Das Erreichen von Tannerstadium 2 wurde als Zeitpunkt des Beginns der Pubertät definiert.

3.2.3 Blutentnahmen

Die Blutentnahmen im Rahmen der BABYDIAB, BABYDIÄT, DiMelli und TEENDIAB Studien wurden vorzugsweise nüchtern, d.h. nach einer Nahrungskarenz von 8 Stunden durchgeführt. Tab. 2 zeigt eine Übersicht über das entnommene Probenmaterial.

Während die Blutentnahmen in der TEENDIAB Studie in einem der beiden Studienzentren durchgeführt wurden und somit eine sofortige Verarbeitung der Blutproben stattfinden konnte, fanden die Blutentnahmen in der BABYDIAB, BABYDIÄT und DiMelli Studie beim behandelnden Arzt statt. Das Probenmaterial wurde anschließend per Express-Kurier über Nacht an das Labor des Instituts für Diabetesforschung, München verschickt. Auf Grund der Instabilität der Blutglukose wurde diese in lokalen Laboren gemessen und der Wert an das Studienzentrum München übermittelt.

Tab. 2: Übersicht über Probenmaterial, Lagerung und Verarbeitung

Probenmaterial	Wie gelagert?	Welche Parameter?	Wo durchgeführt?
Serum	-80°C	IAA, GADA, IA-2A und ZnT8A	Institut für Diabetesforschung, München (A.-G. Ziegler)
		Triglyceride	Institut für klinische Chemie am Klinikum rechts der Isar München
K2-EDTA- Plasma	-80°C	25(OH)D	Institut für Diabetesforschung, München (A.-G. Ziegler)
K2-EDTA- Zellpellet	-20°C	DNA	Institut für Diabetesforschung, München (A.-G. Ziegler)
K2-EDTA- Vollblut	<i>Keine Lagerung</i>	HbA1c	Institut für klinische Chemie am Klinikum rechts der Isar München
Aprotinin/K3- EDTA-Plasma	-80°C	Insulin, C-Peptid	Institut für Diabetesforschung, München (A.-G. Ziegler)
K2-EDTA- bzw. Fluorid-Plasma	<i>Keine Lagerung</i>	Blutglukose	jeweils lokales Labor des Arztes bzw. Klinikums

3.2.4 Glukosetoleranztests

Im Rahmen der Eingangsuntersuchung der TEENDIAB Studie wurden bei den Probanden Glukosebelastungstests (intravenös oder oral) durchgeführt. Die Probanden wurden aufgefordert, sich mindestens drei Tage vor dem Test kohlenhydratreich zu ernähren und 12 Stunden vorher sollte weder Kaffee, Tee, Alkohol oder Tabak konsumiert werden. Auch während des Tests durften die Teilnehmer nicht essen, rauchen oder kalorien- bzw. koffeinhaltige Getränke zu sich nehmen. Beim ivGTT wurde dem Probanden eine 25%ige Glukoselösung mit einer Gesamtmenge von 0,5 g Glukose pro kg Körpergewicht

(Maximaldosis: 35 g) über eine dreiminütige *square-wave*-Infusion mit einem Schwankungsbereich von ca. 15 s injiziert.

Beim oGTT wurden pro kg Körpergewicht 1,75 g Glukose in Form einer Glukoselösung (75 g/300 ml; 1 g = 4 ml) verabreicht. Die Maximaldosis betrug 75 g Glukose. Diese Lösung sollte vom Probanden innerhalb von drei bis fünf Minuten getrunken werden und durfte nicht erbrochen werden.

Die Blutabnahme zur Bestimmung von Glukose sowie zum quantitativen Nachweis von C-Peptid und Insulin (aus K3-Aprotinin-EDTA-Plasma) erfolgte beim ivGTT zu den Zeitpunkten -10, -4 (vor Verabreichung der Glukoselösung), 1, 3, 5, 7 und 10 min; sowie beim oGTT direkt vor Aufnahme der Glukose (0 min), 30, 60, 90 und 120 min später. Um unnötige Punktionen zu vermeiden, wurde den Probanden ein peripherer Venenverweilkatheter gelegt.

3.2.5 Vitamin D-Zufuhr

Das Ernährungsverhalten der TEENDIAB Studienteilnehmer wurde mit Hilfe einer vom Robert-Koch-Institut entwickelten und validierten (Mensink et al., 2001) Ernährungssoftware (*Dietary Interview Software for Health Examination Studies*, DISHES, Robert-Koch-Institut, Berlin, Deutschland) erhoben. Die Befragung wurde retrospektiv, im Stil eines Interviews mit den Probanden durchgeführt und bezog sich hauptsächlich auf die üblichen Essgewohnheiten der letzten vier Wochen. Durch die Integration des Bundeslebensmittelschlüssels (Version II.3) in das Programm war eine Auswertung der Makro- und Mikronährstoffen pro Tag und Person möglich. Die Vitamin D-Zufuhr wurde in µg/d angegeben.

3.3 Analytik

Die analytische Bestimmung von 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D), sowie Insulin und C-Peptid wurde im Rahmen dieser Arbeit eigenständig durchgeführt. Alle weiteren Parameter wurden im Routinelabor des Instituts für Diabetesforschung gemessen bzw. von Kooperationspartnern bestimmt. Die Ergebnisse wurden für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt.

3.3.1 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D)

25(OH)D wurde bei allen Studienteilnehmern aus Plasmaproben mit Hilfe des 25-Hydroxyvitamin D Radioimmunoassay Kits (DiaSorin, Stillwater, USA) gemäß Herstellerangaben bestimmt. Das Testprinzip ist schematisch in Abb. 6 dargestellt. Die Proben wurden lichtgeschützt bei -80°C gelagert. Vor dem eigentlichen Testverfahren erfolgte eine Extraktion von 25(OH)D und anderen hydroxylierten Metaboliten aus Plasma mit Acetonitril. Dazu wurden in Borosilikatglasröhrchen 50 μl Plasma langsam in Acetonitril überführt, um anschließend mindestens 10 Sekunden lang zu vortexen. Nach Zentrifugation (1200 g, 20 min) bei Raumtemperatur wurden doppelte 25 μl -Aliquots pro Probe in neue Röhrchen überführt. Zu jedem Röhrchen wurden 1 ml Antiserum und 50 μl mit I^{125} -markiertem 25(OH)D-Analogon gegeben. Nach einer Inkubationszeit von 90 min wurden die Proben mit 500 μl einer präzipitierenden Lösung versetzt. Nach einer weiteren Inkubation (20 min) wurde zu jedem Röhrchen 500 μl Pufferlösung zugegeben, um die nichtspezifische Bindung zu reduzieren. Nach dem Zentrifugieren aller Probenröhrchen wurden die Überstände dekantiert und die am Röhrchenboden verbliebenen Pellets für neun Minuten mit einem Gammazähler (Cobra II, Canberra Packard, Meriden, USA) gemessen.

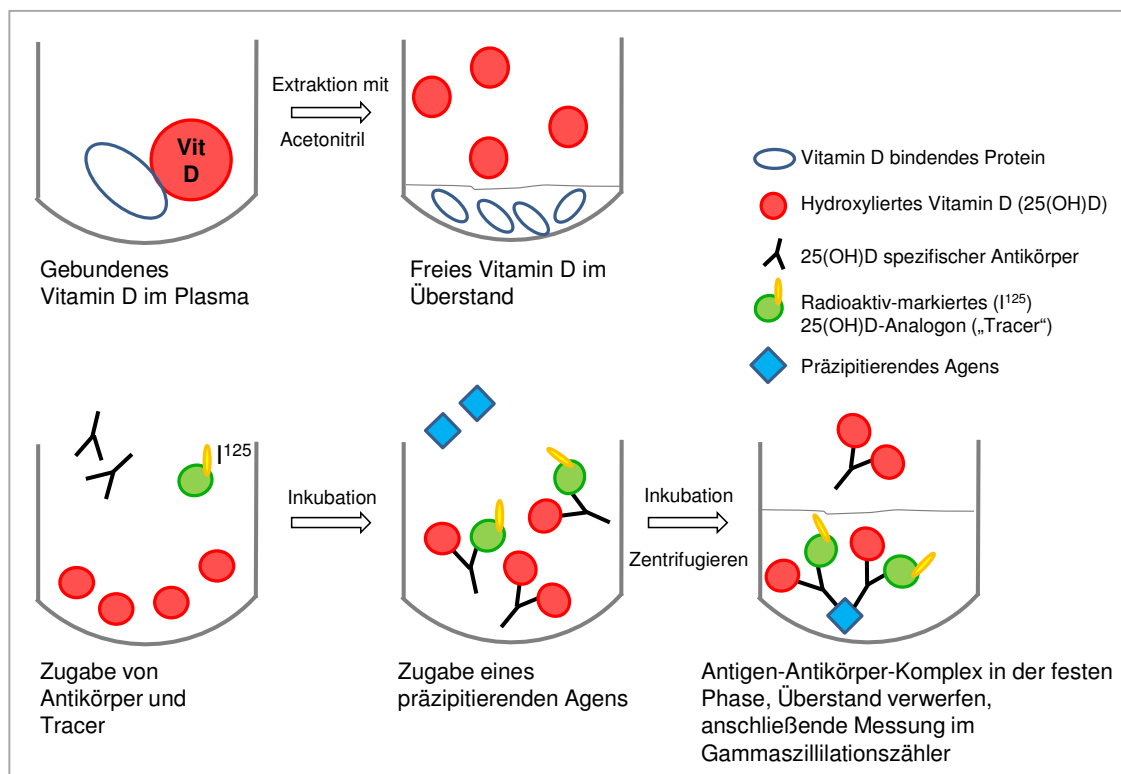


Abb. 6: Testprinzip des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits von DiaSorin.

Für die Berechnung der 25(OH)D-Werte wurden die gemessenen cpm ins Verhältnis zur mitgelieferten Standardkurve (Abb. 7) gesetzt. Die Vitamin D-Konzentrationen wurden in ng/ml angegeben. Der Interassay-Variationskoeffizient des Tests betrug 8,1 % bei einer mittleren Konzentration von $24,6 \pm 2,0$ ng/ml. Die vom Hersteller angegebene Sensitivität des Assays beträgt $\leq 1,5$ ng/ml und die Spezifität wird in Tab. 3 angegeben.

Tab. 3: Analytische Spezifität des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits von DiaSorin (lt. Herstellerangaben)

Steroid	Kreuzreaktivität (%)
Vitamin D ₂ (Ergocalciferol)	0,8
Vitamin D ₃ (Cholecalciferol)	0,8
25(OH)D ₂	100
25(OH)D ₃	100
24,25(OH) ₂ D ₂	100
24,25(OH) ₂ D ₃	100
25,26(OH) ₂ D ₂	100
25,26(OH) ₂ D ₃	100
1,25(OH) ₂ D ₂	11
1,25(OH) ₂ D ₃	11

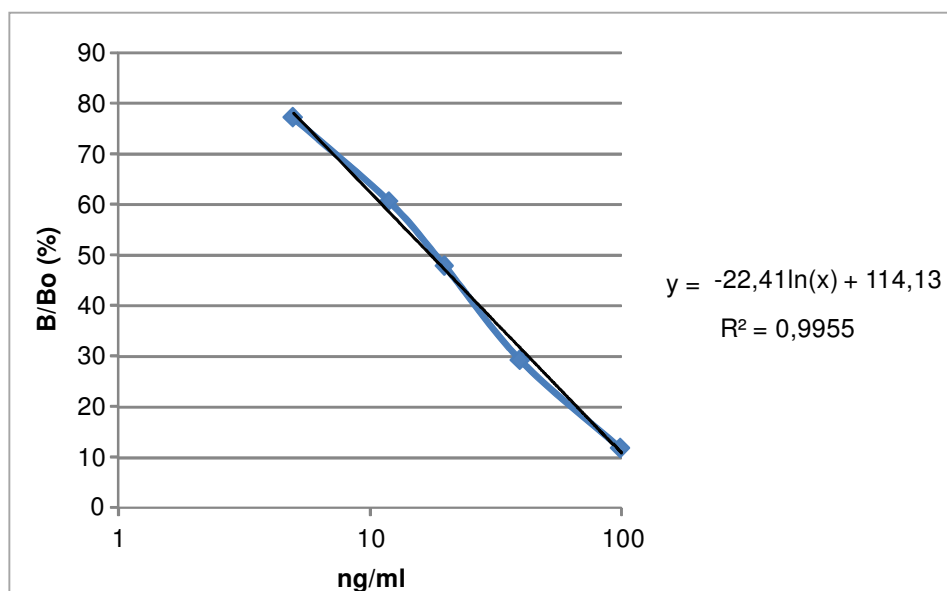


Abb. 7: Beispiel einer Standardkurve des 25(OH)D-Radioimmunoassay Kits.

3.3.2 Insulin und C-Peptid

Die Bestimmung von Insulin und C-Peptid (Produkt der enzymatischen Umwandlung vom Proinsulin zum Insulin) erfolgte stets aus Nüchtern-Blutproben. Bei Typ-1-Diabetespatienten wurde auf die Insulinmessung verzichtet und ausschließlich C-Peptid bestimmt. Insulin und C-Peptid wurden in Aprotinin-stabilisiertem EDTA-Plasma mit Hilfe eines automatisierten Immunoassay-Analyzer (AIA 360; Tosoh, San Francisco, USA) gemessen. Für die Messung wurden 200 µl zu testendes Plasma in ein Gefäß (Hitachi-Cup, Tosoh, San Francisco, USA) pipettiert und in das Gerät eingesetzt. Pro Probe wurde nun je ein spezieller Testbecher (Tosoh, San Francisco, USA) für Insulin und C-Peptid eingesetzt und das Gerät gestartet. Die Immunreaktion lief direkt im Testbecher nach folgendem Testprinzip ab:

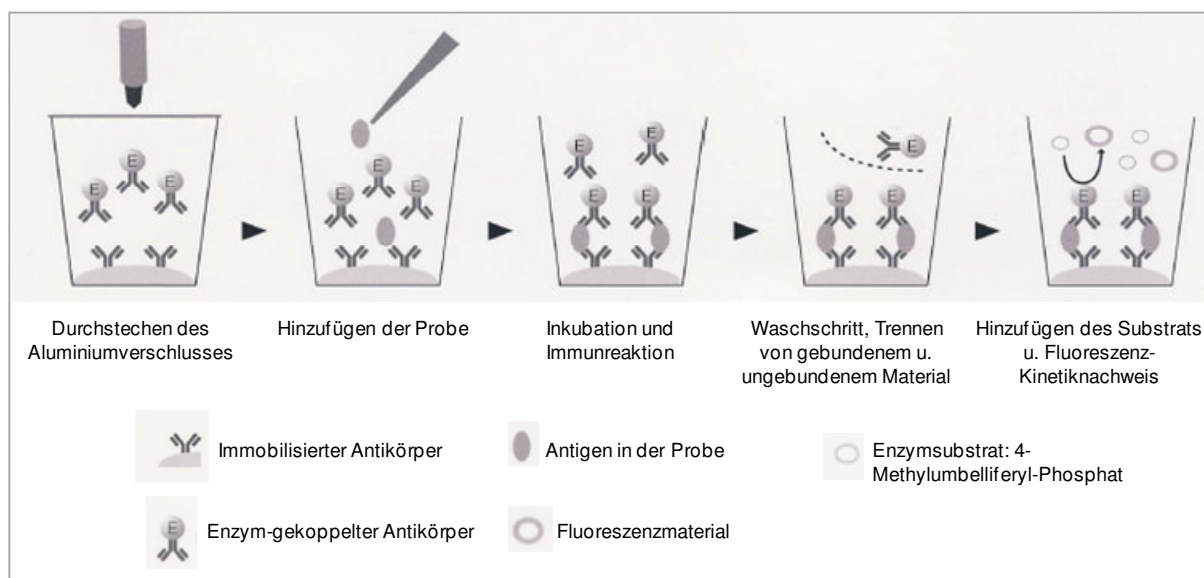


Abb. 8: Testprinzip des Immunoassay-Analyzer AIA 360 von Tosoh (*modifiziert nach Tosoh-Bioscience*).

Im Testbecher befinden sich magnetische Beads, die mit immobilisierten spezifischen Antikörpern überzogen sind und freie enzymgekoppelte Antikörper. Durch Hinzufügen der Probe bilden Antigen (Insulin oder C-Peptid) und Antikörper einen Komplex und binden somit die enzymgekoppelten Antikörper an die Beads. Nach Inkubation und einem Waschschrift (Waschlösung vom Hersteller) werden die freien enzymgekoppelten Antikörper entfernt. Durch Zugabe einer Enzymsubstratlösung (vom Hersteller) findet eine enzymatische Reaktion statt und fluoreszierende Endprodukte entstehen die nun quantitativ bestimmt werden können.

Das Gerät wurde täglich mit Hersteller- und internen Kontrollen kalibriert. Der Interassay-Variationskoeffizient betrug beim Insulin-Assay 8,4 % mit einer unteren Detektionsgrenze

von 0,5 μ U/ml. Beim C-Peptid-Assay lag der Interassay-Variationskoeffizient bei 5,1 % mit einer unteren Detektionsgrenze von 0,2 ng/ml.

3.3.3 DNA-Isolierung und Bestimmung der Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Genen

Die DNA-Isolierung wurde im Routinelabor des Instituts für Diabetesforschung München (A.-G. Ziegler) durchgeführt. Für die DNA-Präparation aus Vollblut wurde eine Aussalzungsmethode verwendet. Das EDTA-Blut (ca. 10 ml) wurde nach Abtrennen des Plasmas in Zentrifugenröhrchen überführt und anschließend mit Erythrozytenlyse-Puffer (RCLB; 100 mM Tris, 50 mM $MgCl_2$, 100 mM NaCl, pH 7,6) auf 20 ml aufgefüllt. Das Gemisch musste auf dem Drehrad 5 min lysieren und wurde danach 10 min bei 640 g zentrifugiert. Nach dem Verwerfen des Überstandes wurde das Pellet wieder in RCLB gelöst. Dieser Waschschrift wurde ca. 7-9 mal wiederholt. Anschließend wurde ein weiterer Lyse-Puffer (NLB; 10 mM Tris, 400 mM NaCl, 2 mM EDTA) zugegeben und das Röhrchen gut geschüttelt. Nach dem Zugeben von PSB-Proteinase-K-Lösung (PSB: 1,0 % SDS, 2 mM EDTA; Proteinase K: Sigma Aldrich) und 200 μ l 10 %er SDS-Lösung (Sigma Aldrich) musste das Präparat bei 42°C im Wasserbad ca. 18 Stunden inkubieren. Anschließend wurde 1 ml NaCl (6 M) pro 4 ml DNA-Lösung hinzugegeben. Das Gemisch inkubierte nun 60 min bei 8°C. Nach Zentrifugation (30 min bei 1100 g) wurde der Überstand in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt und mit 5 ml Isopropanol versetzt. Der DNA-Faden wurde anschließend mit einer Impföse aufgenommen und in 80 %en Ethanol zweimal gewaschen. Nach dem Trocknen (ca. 1 Stunde) wurde entsprechend der DNA-Menge TE-Puffer (1 mM Tris, 0,1 mM EDTA, pH 8,0) zugegeben, anschließend musste das DNA-Puffer-Gemisch ca. 2 Wochen bei 8°C quellen. Die DNA-Konzentrationsmessung erfolgte mit Hilfe eines Fotometers (UV-160A, Shimadzu, Kyōto, Japan).

Die SNPs der Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Gene (Tab. 4) wurden mit dem MassARRAY[®] System unter Verwendung der iPLEX[™] Chemie (Sequenom, San Diego, USA) in der Abteilung für Molekulare Epidemiologie, Helmholtz Zentrum München, bestimmt. Die isolierte DNA (gelöst in TE-Puffer) wurde in eine 96-Well-Mikroplatte (Thermo-Fast 96 PCR Plate Skirted, ABgene, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) überführt und mit SNP-spezifisch designten Primern in einer Multiplex-PCR amplifiziert. Die im folgendem durch allel-abhängige Einzelbasenverlängerung gewonnenen Produkte wurden mit einem Nanoliter Pipettier-System (SpectroCHIP, SpectroPOINT Spotter; Sequenom, San Diego, USA) auf einen 384-Element Chip geladen. Anschließend wurden die Proben mit

einem Matrix-unterstützten Laser-Desorptions/Ionisations-Flugzeitmassenspektrometers (MALDI-TOF, Bruker Daltonik, Leipzig, Deutschland) analysiert. Die Peaks der resultierenden Massenspektren wurden mit der SpectroTYPER RT 3.4 Software (Sequenom, San Diego, USA) identifiziert. Um die Vergleichbarkeit zu kontrollieren, wurden 16,3 % der Proben in Duplikaten genotypisiert, die eine Diskordanzrate von weniger als 0,5 % aufwiesen. Alle SNPs wurden mit Hilfe von Chi-Quadrat-, oder exaktem Fisher-Test auf Abweichung vom Hardy-Weinberg-Gesetz getestet.

Die geplante Genotypisierung von *VDR rs11568820 (Cdx2)* konnte auf Grund technischer Probleme nicht durchgeführt werden.

Tab. 4: Übersicht über die untersuchten SNPs der Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Gene

Gen	Funktion	SNP	Allele (major>minor)	Minor allele frequency (MAF)*
CYP24A1	Enzym: 24-Hydroxylase; Abbau von Calcitriol	rs2296241	A/G	0,500
		rs6013897	T>A	0,233
CYP27A1	Enzym: 25-Hydroxylase; Hydroxylierung von Vitamin D ₃ zu 25(OH)D ₃	rs17470271	A>T	0,268
CYP27B1	Enzym: 1 α -Hydroxylase; Aktivierung von 25(OH)D ₃ zu Calcitriol	rs10877012	G>T	0,354
CYP2R1	Enzym: 25-Hydroxylase; Hydroxylierung von Vitamin D ₃ zu 25(OH)D ₃	rs1993116	C>T	0,337
		rs12794714	G>A	0,351
DHCR7	Enzym: 7-Dehydrocholesterol-Reduktase; Cholesterinsynthese	rs4945008	G>A	0,275
GC	Codiert für Vitamin D-bindendes Protein; Vitamin D-Transport	rs12512631	T>C	0,357
		rs2282679	A>C	0,261
		rs222040	T>C	0,422
VDR	Codiert für Vitamin D-Rezeptor	rs1544410	G>A	0,438
		rs2228570	C>T	0,412
		rs7975232	A>C	0,429

*Quelle: Sherry et al. (2001)

3.3.4 Diabetes-assoziierte Inselautoantikörper

In jeder vorliegenden Blutprobe der Kinder wurden Inselautoantikörper gegen Insulin, GAD, IA-2 und ZnT8 gemessen. Die Messungen wurden im Routinelabor des Instituts für Diabetesforschung München (A.-G. Ziegler) durchgeführt und die Ergebnisse für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt. Alle Inselautoantikörper wurden mit quantitativen Radioliganden-Bindungs- (GADA, IA-2A, ZnT8A) bzw. Kompetitionsassays (IAA) bestimmt, die bereits in der Literatur beschrieben wurden (Ziegler et al., 1999, Achenbach et al., 2009). Die Inselautoantikörpertiter der Proben wurden anhand einer Standardkurve ermittelt, die mit Hilfe eines Negativserums und einer Verdünnungsreihe eines Positivserums erstellt wurde. Die Grenzen für Positivität wurden anhand der 99. Perzentile von nicht-diabetischen Kontrollpersonen festgelegt (Törn et al., 2008, Schlosser et al., 2010, Lampasona et al., 2011).

Der Interassay-Variationskoeffizient bei den Proben mit niedrigen Antikörper-Titern war 11 % für IAA, 18 % für GADA, 16 % für IA-2A, 17 % für ZnT8RA und 16 % für ZnT8WA. Kinder wurden als Inselautoantikörper-positiv bezeichnet, wenn in mindestens zwei aufeinanderfolgenden Proben ein oder mehrere positive Antikörpertiter gemessen wurden.

3.3.5 Extern gemessene Parameter

1,25-Dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃)

Die aktive Form des Vitamin D, 1,25(OH)₂D₃ (Calcitriol) wurde in 327 Serumproben von Kindern der BABYDIAB/TEENDIAB Studien extern durch ein Auftragslabor (Labor Dr. Limbach & Kollegen, Heidelberg, Deutschland) mit Hilfe eines Chemilumineszenz-Immunoassays bestimmt.

HbA1c und Triglyceride

Die Bestimmung von HbA1c und Triglyceriden erfolgte zentral im Labor des Instituts für klinische Chemie am Klinikum rechts der Isar München. Beide Parameter wurden in 244 Patientenproben der DiMelli Studie analysiert.

Der HbA1c-Wert wurde in EDTA-Vollblut durch einen automatisierten HPLC-Analyser (HLC-723 GHb G7, Tosoh, San Francisco, USA) bestimmt. Die Triglyceride wurden durch ein kolorimetrisch-enzymatisches Testverfahren in einem Cobas 8000® Analyser mit dem c502 Modul (Roche Diagnostics, Basel, Schweiz) gemessen.

3.4 Datenmanagement und Statistik

Mit Hilfe von deskriptiven Analysen wurden die Häufigkeiten für die einzelnen Merkmalsausprägungen (Geschlecht, Alter, BMI, usw.) in den untersuchten Studienpopulationen berechnet. Kontinuierliche Variablen sind als Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) bzw. Standardfehler (SEM), oder als Mediane mit Interquartilsabstand (IQR, 25.-75. Perzentile) angegeben.

Die Vergleiche der Vitamin D-Konzentrationen zwischen den Monaten, sowie zwischen den einzelnen Studienpopulationen erfolgte mit Hilfe des nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Tests. Um einen Vitamin D-Mangel abzuschätzen, wurden die 25(OH)D-Konzentrationen in Anlehnung an die Empfehlungen der Ernährungscommission der Deutschen Gesellschaft für Kinder- und Jugendmedizin (DGKJ) (Böhles et al., 2011) und der ESPGHAN-Gesellschaft (Braegger et al., 2013) in folgende Kategorien eingeteilt: schwerwiegender Mangel (<10 ng/ml), Vitamin D-Mangel (<20 ng/ml), unzureichende Versorgung (20-30 ng/ml) und optimale Versorgung (>30 ng/ml). Zum Vergleich der Verteilung eines Vitamin D-Mangels zwischen den Studienpopulationen wurde der χ^2 -Test herangezogen. Zusammenhänge zwischen Vitamin D-Konzentrationen und verschiedenen Kovariablen (Geschlecht, Alter, BMI-SDS, Jahreszeit) wurden mit der bivariaten Korrelation nach Spearman-Rho bestimmt. Um für den Einfluss von Störfaktoren (Alter, Jahreszeit, Studientyp) auf den Vitamin Status zu korrigieren, wurden multivariable Regressionsmodelle berechnet. Die Kategorisierung der Variablen Studientyp, Geschlecht und Jahreszeit erfolgte stets dichotom.

Überlebenszeitanalysen (Sterbetafeln und Cox-Regressionen) wurden verwendet, um den Einfluss von Vitamin D auf das kumulative Risiko für Typ-1-Diabetes zu berechnen und innerhalb von verschiedenen Vitamin D-Kategorien zu vergleichen. Das Auftreten von Typ-1-Diabetes wurde als Zielereignis (ja/nein) definiert. Kinder wurden ab der Bestimmung des Vitamin D-Spiegels (eine Blutprobe 12-24 Monate nach Entwicklung von Inselautoimmunität) bis zur Manifestation des Typ-1-Diabetes in die Analyse eingeschlossen. Bei Kindern, die nicht an Typ-1-Diabetes erkrankten, wurde das Datum des letzten Kontakts verwendet. Um die Analyse für Störfaktoren (Studientyp, Alter, Jahreszeit) zu korrigieren, wurden adjustierte Hazard Ratios (HR) und entsprechende 95 %ige-Konfidenzintervalle (KI) in einer multivariablen Cox-Regression berechnet. Vitamin D-Konzentrationen wurden hier als kontinuierliche sowie als kategoriale Variable (Referenzkategorie: optimale Versorgung) eingesetzt.

Zur Ermittlung von β -Zellfunktion und Insulinresistenz wurden verschiedene validierte Parameter berechnet. Nach Durchführung eines ivGTTs konnten folgende Parameter berechnet werden:

- *First Phase Insulin Response* (FPIR): Summe der Insulinkonzentration von 1 und 3 min nach Glukoseinfusion.
- Fläche unter Kurve (*area under the curve*, AUC) der C-Peptidkonzentrationen: berechnet als Integral aller Zeitpunkte eines ivGTTs nach der Formel von Tai (1994).

$$AUC = 1/2 \sum_{i=1}^n x_{i-1}(y_{i-1} + y_i)$$

Aus dem Ergebnis des oGTTs wurden folgende Parameter abgeleitet:

- AUC der C-Peptidkonzentrationen: berechnet als Integral aller Zeitpunkte eines oGTTs nach der Formel von Tai (siehe oben).
- Ein validierter Insulinsensitivitäts-Score (ISI) nach Matsuda und DeFronzo (1999).

$$ISI = \frac{10\,000}{\sqrt{\frac{(\text{nüchtern Glukose} \times \text{nüchtern Insulin}) \times \bar{x} \text{ Glukose} \times \bar{x} \text{ Insulin}}{}}}$$

Die Insulinresistenz wurde bei nicht-diabetischen Personen gemäß dem *Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance* (HOMA-IR) (Matthews et al., 1985) aus Nüchtern-Insulin und -Glukose berechnet.

$$HOMA - IR = \frac{\text{Glukose} \times \text{Insulin}}{405}$$

Bei Typ-1-Diabetespatienten der DiMelli Kohorte erfolgte die Berechnung eines Insulinsensitivitäts-Scores nach Dabelea et al. (2011) aus folgenden Variablen: Hüftumfang, HbA1c und Triglyceriden ($\log_e IS = 4,64725 - 0,02032 * (\text{Hüftumfang}) - 0,09779 * (\text{HbA1c}) - 0,00235 * (\text{Triglyceride})$). Der Score wurde kategorisiert: $< 8,15$ = insulinresistent, $\geq 8,15$ = insulin sensitiv.

Der Einfluss von Vitamin D auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz wurde mit Hilfe linearer Regressionsmodelle berechnet. Die β -Zellfunktion- und Insulinresistenz-Parameter gingen jeweils als abhängige Variable in das Modell ein, Vitamin D-Konzentrationen (als kontinuierliche und kategoriale Variable) und Kofaktoren (BMI-SDS, Alter, Geschlecht, Jahreszeit) waren unabhängige Variablen.

Die Assoziationen zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und 25(OH)D-Konzentrationen (abhängige Variable) wurden mit einem linearen Regressionsmodell

berechnet. Die drei möglichen Ausprägungen der SNPs wurden kategorisiert (0 $\hat{=}$ Major-Allel homozygot /1 $\hat{=}$ heterozygot /2 $\hat{=}$ Minor-Allel homozygot) und gingen als unabhängige Variablen (plus Kofaktoren) in das Modell ein. Dargestellt wurde jeweils der Regressionskoeffizient für das Minor-Allel. Der Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen zwischen den verschiedenen Ausprägungen eines SNP erfolgte durch den Mann-Whitney-U-Test.

Um die Zusammenhänge zwischen β -Zellfunktion bzw. Insulinresistenz und Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs zu analysieren, wurden ebenfalls lineare multivariable Regressionsmodelle verwendet. Als abhängige Variablen wurden β -Zellfunktion- bzw. Insulinresistenz-Parameter verwendet. Durch die Analyse von insgesamt 13 SNPs wurde das Signifikanzniveau durch Bonferroni-Korrektur für multiples Testen auf $0,05/13=0,004$ abgesenkt.

Für alle Berechnungen zur Entwicklung der Insulinresistenz während der Kindheit unter Punkt 4.7 wurden die HOMA-IR Werte logarithmiert (\log_{10}), um die Werte einer Normalverteilung anzunähern. Der Vergleich des HOMA-IR zwischen Jungen und Mädchen bzw. zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern wurde mittels *t*-test bei gepaarten Stichproben errechnet. Um für Störfaktoren (Studientyp, BMI-SDS) zu korrigieren wurde ein lineares Regressionsmodell verwendet. Da eine bestimmte Anzahl an Personen mit mehreren Messwerten in die Analyse gingen, wurde eine Sensitivitätsanalyse mit festen Effekten für jede Person durchgeführt.

Um den Zeitpunkt des Beginns der Pubertät zwischen Jungen und Mädchen, sowie zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern zu vergleichen, wurden Überlebenszeitanalysen angewendet. Für die Berechnungen wurden nur die Kinder berücksichtigt, bei denen Information über Tannerstadium 2 mindestens einmal vorhanden war.

Die statistischen Auswertungen erfolgten mit der Software „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS Version 20/21; SPSS, Chicago, USA) für Windows, GraphPad Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, USA), sowie mit der statistischen Analysesoftware der Firma SAS (Cary, USA). Für alle Analysen (Ausnahme: SNP-Analyse unter Punkt 4.6) lag das Signifikanzniveau bei 5 %, d.h. ein p-Wert $<0,05$ wurde in allen Analysen als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der TEENDIAB Studienkohorte und Compliance der Studienteilnehmer

Die vorliegenden Ergebnisse stammen von Untersuchungen zum Zeitpunkt des Studieneintritts von insgesamt 334 Kindern der TEENDIAB Studie, die bis Mai 2012 im Rahmen dieser Dissertation rekrutiert, untersucht und in die Studie eingeschlossen wurden.

Die Kinder der TEENDIAB Studie waren zum Zeitpunkt der Studieneingangsuntersuchung im Median 10,9 Jahre alt (IQR: 9,5-11,8 Jahre), das Geschlechterverhältnis war ausgewogen und 98,5 % der Studienteilnehmer waren kaukasischer Abstammung. Die Hälfte (49,5 %) aller Kinder befand sich noch im präpubertären (Tannerstadium 1) Stadium. Die Studienteilnehmer waren im Durchschnitt normalgewichtig und bei 316 Probanden wurde erfolgreich ein Glukosetoleranztest durchgeführt (Tab. 5).

Tab. 5: Deskriptive Kennzahlen der TEENDIAB Studienpopulation

TEENDIAB Kohorte (n=334)	
Geschlecht: weiblich, n (%)	164 (49,1)
Alter [Jahre], Median (IQR)	10,9 (9,5-11,8)
Kaukasier, n (%)	329 (98,5)
BMI-SDS, Median (IQR)	-0,10 (-0,85-0,75)
Tannerstadium, %	
1	49,5
2, 3 und 4	48,0
5	2,5
Familiärer Typ-1-Diabetes, %	
Mutter	35,9
Vater	39,5
Geschwisterkind	21,6
multiplex	3,0
persistierend Inselautoantikörper-positiv, n (%)	26 (8,4)
Glukosetoleranztest (intravenös/oral), n	171/145

Die Compliance der 334 Studienteilnehmer war durch die bereits beschriebenen Maßnahmen (siehe Punkt 3.1.3) sehr gut und die Drop-out-Rate lag mit 4 % auf einem sehr niedrigen Niveau. Tab. 6 zeigt den prozentualen Anteil der durchgeführten Nachuntersuchungen (Follow up) der 334 Kinder nach Studieneintritt bis zum jetzigen Zeitpunkt (Stand: August 2013).

Tab. 6: Übersicht des prozentualen Anteils der durchgeführten Nachuntersuchungen (Follow up)

Follow up (FU)	ja (%)	nein (%)	ausstehend (%)
6-monatiges FU	88,9	11,1	0
12-monatiges FU	85,6	13,2	1,2
18-monatiges FU	79,6	18,3	2,1
24-monatiges FU	65,3	13,8	20,9

Stand: August 2013

4.2 Abhängigkeit des Vitamin D-Spiegels in den untersuchten Studienpopulationen

4.2.1 Abhängigkeit des 25(OH)D-Spiegels

Für die nachfolgend genannten Analysen wurde der 25(OH)D-Gehalt im Plasma von 108 Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern, sowie von 406 Inselautoantikörper-negativen Kindern bestimmt. Zusätzlich wurden die 25(OH)D-Konzentrationen in 244 Kindern mit einem neu manifestierten Typ-1-Diabetes aus der DiMelli Studie untersucht (s. Punkt 3.1.5).

In allen 3 untersuchten Populationen hing die Konzentration von 25(OH)D im Plasma stark vom Alter ab. Mit zunehmendem Alter sank der 25(OH)D-Spiegel signifikant ab (Tab. 7). Nach Einteilung der Blutabnahmezeitpunkte in Monate mit stärkerer UV-B-Strahlung (Mai bis Oktober) und schwächerer UV-B-Strahlung (November bis April), zeigte sich eine erwartungsgemäß starke Abhängigkeit des 25(OH)D-Spiegels von der Jahreszeit. Bei Inselautoantikörper-negativen Kindern und den Typ-1-Diabetespatienten war die Konzentration in den Sommermonaten signifikant höher als im Vergleich zu Blutproben, die in den Wintermonaten entnommen wurden. Nur bei den Inselautoantikörper-positiven Kindern zeigte sich kein Effekt nach Aufteilung der Jahreszeit in zwei Kategorien (Sommer und Winter) (Tab. 7). Wurden die gemessenen 25(OH)D-Konzentrationen allerdings pro Monat aufgetragen, konnte man bei allen drei Studienpopulationen eine mehr oder weniger starke jahreszeitliche Variation feststellen. So hatten Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern signifikant erniedrigte 25(OH)D-Spiegel im Vergleich zu

Inselautoantikörper-negativen Kindern während der Monate mit den höchsten UV-B-Intensitäten (Mai $p=0,002$; Juni $p=0,011$; Juli $p=0,001$; September $p=0,005$). Kinder mit Typ-1-Diabetes hingegen hatten fast das ganze Jahr signifikant niedrigere 25(OH)D-Spiegel, verglichen mit Inselautoantikörper-negativen Kindern (Abb. 9).

In einer Subkohorte der Inselautoantikörper-negativen Kinder ($n=268$) konnte als zusätzlicher Parameter auch die Vitamin D-Zufuhr über die Nahrung bestimmt werden. Die durchschnittliche Zufuhr betrug $2,1 \pm 1,5 \mu\text{g/d}$ und korrelierte nicht mit der 25(OH)D-Konzentration im Plasma (Tab. 7).

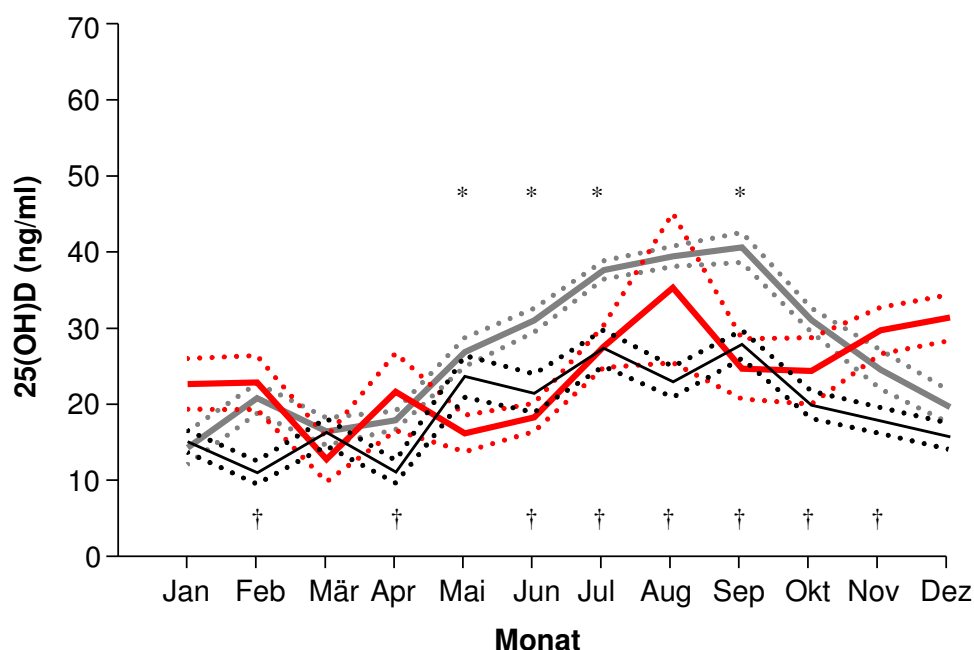


Abb. 9: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen aufgeteilt nach Monaten in Blutproben der Inselautoantikörper-negativen (AK-, graue Linie), -positiven (AK+, rote Linie) Studienteilnehmer und Kinder mit Typ-1-Diabetes (T1D, schwarze Linie). Der SEM (\pm) ist jeweils als gepunktete Linie dargestellt. *Signifikante Unterschiede zwischen AK+ und AK-; † signifikante Unterschiede zwischen T1D und AK-.

Tab. 7: Abhängigkeit des Plasma 25(OH)D-Spiegels in den einzelnen Studienpopulationen

	Korrelationskoeffizient (Spearman-Rho)	p-Wert
Kinder mit ≥ 2 Inselautoantikörpern (n=108)		
Alter	-0,302	0,001
Geschlecht	-0,010	0,9
BMI-SDS	-0,086	0,7
Jahreszeit	0,063	0,5
Typ-1-Diabetes-Kohorte (n=244)		
Alter	-0,182	0,004
Geschlecht	-0,050	0,4
BMI-SDS	0,044	0,5
Jahreszeit	0,440	$5,5 \times 10^{-13}$
Kinder ohne Inselautoantikörper (n=406)		
Alter	-0,159	0,004
Geschlecht	0,136	0,1
BMI-SDS	-0,122	0,027
Jahreszeit	0,607	$1,62 \times 10^{-34}$
Vitamin D-Zufuhr mit der Nahrung (Subkohorte, n=268)	0,041	0,5

4.2.2 Abhängigkeit der Calcitriol ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)-Spiegel in der Risikokohorte

Bei 327 Probanden der untersuchten Riskokohorte konnte zusätzlich zum Vitamin D-Status (repräsentiert durch 25(OH)D), auch die aktive Form des Vitamin D (Calcitriol) bestimmt werden. Die durchschnittliche Konzentration von Calcitriol im Serum betrug $36,23 \pm 11,32$ ng/l. Mit zunehmendem Alter der Probanden stiegen die Calcitriol-Konzentrationen signifikant an (Tab. 8). Es war kein Zusammenhang mit dem Geschlecht, BMI-SDS, dem 25(OH)D-Spiegel, der Vitamin D-Zufuhr aus der Nahrung und dem Zeitpunkt der Blutentnahme (Sommer vs. Winter) erkennbar.

Tab. 8: Abhängigkeit der Calcitriol (1,25(OH)₂D₃)-Spiegel in der Risikokohorte

	Korrelationskoeffizient (Spearman-Rho)	p-Wert
Alter	0,131	0,018
Geschlecht	-0,047	0,4
BMI-SDS	0,036	0,5
Jahreszeit	-0,013	0,8
Vitamin D-Zufuhr mit der Nahrung (Subkohorte, n=268)	0,057	0,4
25(OH)D	0,089	0,1

4.3 Prävalenz von Vitamin D-Mangel und 25(OH)D-Konzentration im Prädiabetes

siehe auch: Raab et al. (2014)

Von 108 Kindern mit multiplen (≥ 2) Inselautoantikörpern hatten 41 (39,8 %) einen Vitamin D-Mangel (< 20 ng/ml), von denen 13 (12,0 %) sogar einen schwerwiegenden Mangel (< 10 ng/ml) aufwiesen. Bei 33 Kindern (30,6 %) wurden unzureichende (20-30 ng/ml) und bei 32 (29,6 %) Kindern ausreichende (> 30 ng/ml) Konzentrationen an 25(OH)D festgestellt.

Im Gegensatz dazu, hatten nur 115 von 406 Inselautoantikörper-negativen Kindern (28,3 %) einen Vitamin D-Mangel, 28 (6,9 %) von ihnen schwerwiegend. Bei 101 (24,9 %) Kindern lagen die Konzentrationen im unzureichenden Bereich, bei fast der Hälfte aller Kinder (46,8 %) jedoch im Optimalbereich.

Der höchste Anteil mit einem schwerwiegendem Vitamin D-Mangel befand sich in der Gruppe der neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten (18 %). Insgesamt wiesen in dieser Gruppe 125 Kinder (51,2 %) einen Vitamin D-Mangel auf, 70 (28,7 %) waren unzureichend und nur 49 (20,1 %) waren optimal versorgt (Abb. 10).

Ein Vitamin D-Mangel (< 20 ng/ml) trat somit signifikant gehäuft in Inselautoantikörper-positiven Kindern auf, im Vergleich zu Kindern ohne Inselautoantikörper (39,8 % vs. 28,3 %, $p=0,021$). Der stärkste Anteil an Kindern mit einem Vitamin D-Mangel befand sich jedoch in der Gruppe der Typ-1-Diabetespatienten (51,2 %, $p=0,048$ vs. Inselautoantikörper-positive Kinder; $p=4,65 \times 10^{-9}$ vs. Inselautoantikörper-negative Kinder). Auch nach Adjustierung für den Einfluss von Jahreszeit und Alter auf Vitamin D-Konzentrationen im Blut blieben die Unterschiede zwischen den Gruppen bestehen (Vergleich der Prävalenz eines Vitamin D-Mangels zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern: $p=2,95 \times 10^{-5}$; bzw.

zwischen Kindern mit Typ-1-Diabetes und Inselautoantikörper-negativen Kindern: $p=3,01 \times 10^{-14}$).

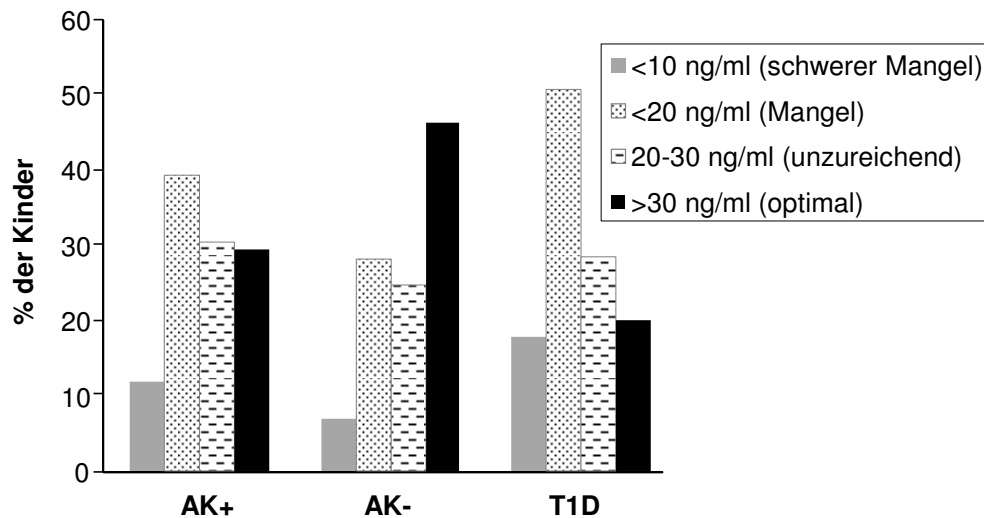


Abb. 10: Prävalenz von schwerwiegendem Vitamin D-Mangel (grau), Mangel (gepunktet), unzureichendem (gestrichelt) und optimalem (schwarz) Vitamin D-Status in Inselautoantikörper-positiven (AK+), -negativen (AK-) und Kindern mit Typ-1-Diabetes (T1D).

Beim Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen im Plasma zeigten sich zwischen allen drei Gruppen signifikante Unterschiede. Den höchsten Plasmaspiegel wiesen die Inselautoantikörper-negativen Kinder auf mit einem Mittelwert von $28,8 \text{ ng/ml} \pm 0,6 \text{ ng/ml}$. Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern hatten im Vergleich dazu signifikant erniedrigte Konzentrationen ($p=3,40 \times 10^{-4}$), mit einem Mittelwert von $24,0 \text{ ng/ml} \pm 1,2 \text{ ng/ml}$. Die niedrigsten Plasmaspiegel zeigten sich bei den Patienten mit Typ-1-Diabetes, mit einem Mittelwert von $19,9 \text{ ng/ml} \pm 0,6 \text{ ng/ml}$, die sich sowohl von Inselautoantikörper-positiven ($p=0,006$) als auch von den -negativen ($p=2,68 \times 10^{-17}$) Kindern signifikant unterschieden (Abb. 11). Auch nach Adjustierung für die Störgrößen Jahreszeit und Alter blieb der starke signifikante Unterschied zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern ($p=0,001$), sowie Typ-1-Diabetespatienten ($p=3,01 \times 10^{-14}$) bestehen.

In einer Fall-Kontroll-Studie wurden nur die 108 Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern und 108 passend dazu ausgewählte Inselautoantikörper-negative Kinder, übereinstimmend im Alter, Geschlecht, Studientyp und Zeitpunkt der Blutentnahme, analysiert. Die Untersuchungen zeigten, dass sich Inselautoantikörper-positive Kinder in den Sommermonaten (Mai bis Oktober) hinsichtlich 25(OH)D-Spiegel signifikant von den Kindern ohne Inselautoantikörper unterschieden ($p=2,72 \times 10^{-4}$). Dieser Effekt trat in den Wintermonaten (November bis April) nicht auf ($p=0,2$).

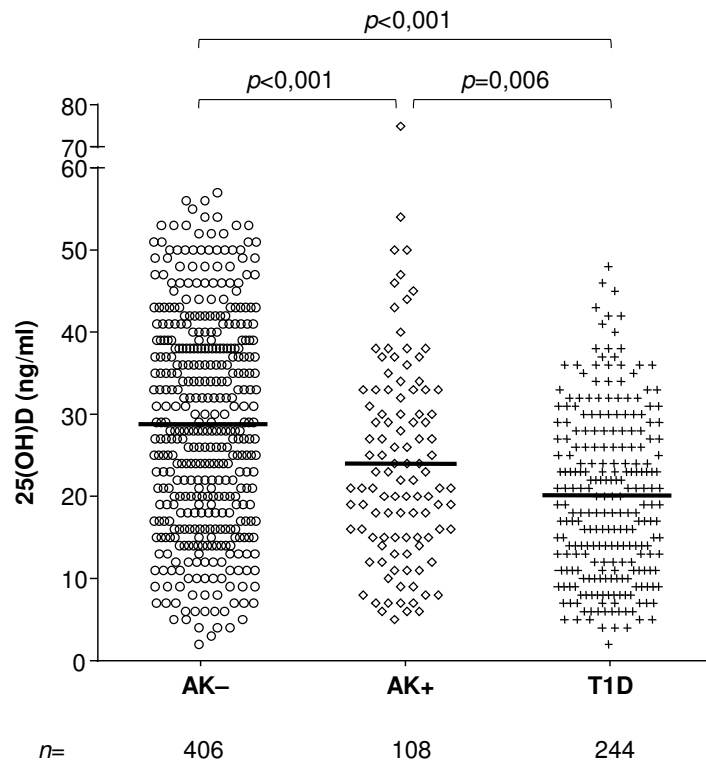


Abb. 11: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen (schwarze Linie stellt den Mittelwert dar) zwischen Inselautoantikörper-negativen (AK-), -positiven (AK+) und Kindern mit Typ-1-Diabetes (T1D). Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder in jeder Gruppe.

4.4 Einfluss von Vitamin D-Mangel und 25(OH)D-Konzentrationen auf die Typ-1-Diabetes-Progressionsrate von Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern

siehe auch: Raab et al. (2014)

Von 108 Kindern mit multiplen (≥ 2) Inselautoantikörpern entwickelten 53 im Laufe der Nachuntersuchungen (Follow up) einen manifesten Typ-1-Diabetes.

Das kumulative Risiko für die Entwicklung von Typ-1-Diabetes bei Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern lag 5 und 10 Jahre nach der Bestimmung des 25(OH)D-Spiegels (12-24 Monate nach dem erstmaligen Auftreten von Inselautoimmunität) bei 37,9 % (95 % KI: 27,8-48,0) und 57,5 % (95 % KI: 45,3-69,7).

25(OH)D-Konzentrationen wurden in 3 Kategorien eingeteilt: Vitamin D-Mangel (<20 ng/ml), unzureichende (20-30 ng/ml) und ausreichende Versorgung (>30 ng/ml). Auf eine vierte Unterteilung in schwerwiegenden Mangel (<10 ng/ml) wurde auf Grund der geringen Fallzahlen verzichtet. Die Progressionsrate nach 5 und 10 Jahren betrug bei Kindern, die einen Vitamin D-Mangel hatten 38,3 % (95 % KI: 21,5-55,1) und 51,8 % (95 % KI: 29,3-74,3). Das kumulative Risiko lag bei Kindern die unzureichend mit Vitamin D versorgt waren

bei 38,9 % (95 % KI: 20,6-57,2) beim 5-Jahres Follow up und 64,0 % (95 % KI: 43,7-84,3) beim 10-Jahres Follow up, während das Risiko bei Kindern mit einer ausreichenden Vitamin D-Versorgung nach 5 Jahren 36,8 % (95 % KI: 19,3-54,3) und nach 10 Jahren 55,4 % (95 % KI: 35,5-72,3) betrug (Abb. 12). Die Progressionsraten nach 5 und 10 Jahren unterschieden sich zwischen den Gruppen nicht signifikant ($p=0,6$). Um für den Einfluss von Alter der Probanden und Studientyp, sowie der jahreszeitlichen Differenzen auf den Vitamin D-Status zu korrigieren, wurde eine multivariable Cox-Regressionsanalyse durchgeführt. Die Ergebnisse bestätigten, dass sowohl 25(OH)D-Konzentrationen (adjustierte HR: 1,00; 95 % KI: 0,98-1,03; $p=0,7$) als kontinuierliche Variable, noch Vitamin D-Mangel (adjustierte HR: 0,68; 95 % KI: 0,35-1,31; $p=0,2$) als kategoriale Variable im Vergleich zur Referenzkategorie (optimale Versorgung), keinen Einfluss auf die Progressionsrate von Inselautoimmunität zum Typ-1-Diabetes hatten.

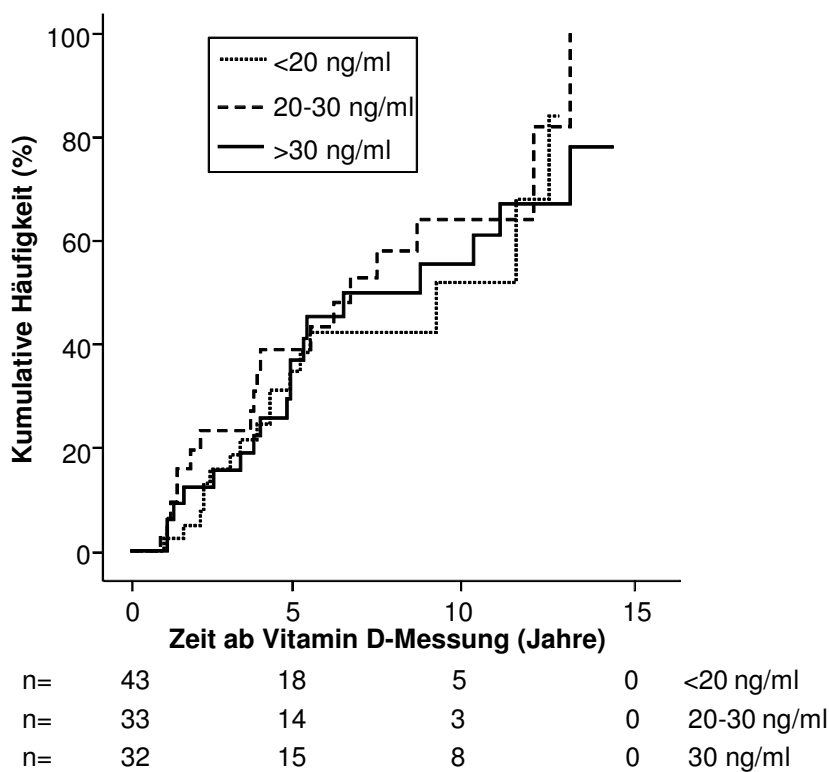


Abb. 12: Kumulatives Risiko für die Entwicklung von Typ-1-Diabetes ab dem Zeitpunkt der Vitamin D-Messung (12-24 Monate nach dem erstmaligen Auftreten von Inselautoimmunität) in Abhängigkeit vom Vitamin D-Status (Mangel: gepunktete Linie, unzureichende Versorgung: gestrichelte Linie, optimale Versorgung: schwarze Linie). Die Zeit beginnt mit der Blutprobe, in der Vitamin D gemessen wurde und endet bei Diabetesmanifestation oder dem letzten Kontakt. Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder zu jedem Nachuntersuchungszeitpunkt. Ein Studienteilnehmer stand für die Nachuntersuchungen nicht mehr zur Verfügung (*Loss to follow up*).

4.5 Einfluss der Vitamin D-Konzentrationen im Blut auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz

4.5.1 Typ-1-Diabetes-Risikokohorte

Bei insgesamt 334 normalgewichtigen (BMI-SDS Median: -0,10; IQR: -0,85-0,75) Kindern im Alter von 10,9 Jahren (Median, IQR: 9,5-11,8) der Risikopopulation wurden verschiedene validierte Parameter errechnet, die sowohl β -Zellfunktion, als auch Insulinresistenz charakterisieren (siehe Punkt 3.4). Als Nüchtern-Marker für die Insulinsekretion diente die Konzentration von C-Peptid, da es im Blut deutlich stabiler ist als Insulin. Die Korrelation von Nüchtern-Insulin und -C-Peptid betrug $r=0,82$ ($p=4,47 \times 10^{-81}$), die C-Peptid-Menge war somit direkt proportional zum ausgeschütteten Insulin. Die durchschnittlichen Werte von HOMA-IR (1,62; normal: <3), Nüchtern-Glukose (89 mg/dl; normal: ≤ 100 mg/dl) und Nüchtern-C-Peptid (1,43 ng/ml; normal: 1,1-3,3 ng/ml) lagen im Normbereich (Tab. 9).

Der Insulinsensitivitätsindex (ISI) korrelierte sehr stark mit dem HOMA-IR ($r=-0,88$; $p=3,41 \times 10^{-47}$) und bei der FPIR zeigte sich eine erwartungsgemäße Abhängigkeit vom BMI-SDS ($r=0,42$; $p=1,86 \times 10^{-8}$) (Abb. 13). Bei allen β -Zellfunktionsparametern zeigte sich eine mäßige bis starke Altersabhängigkeit ($r=0,32$; $p=5,44 \times 10^{-9}$ für HOMA-IR, $r=0,15$; $p=0,05$ für FPIR, $r=-0,40$; $p=8,63 \times 10^{-7}$ für ISI, $r=0,16$; $p=0,039$ für AUC C-Peptid ivGTT, $r=0,16$; $p=0,039$ für AUC C-Peptid ivGTT, $r=0,37$; $p=8,0 \times 10^{-6}$ für AUC C-Peptid oGTT).

Die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse zeigten eine signifikante Assoziation von Calcitriol mit den Nüchtern-Parametern Glukose und C-Peptid. So hatten Kinder mit niedrigen Calcitriol-Konzentrationen signifikant weniger C-Peptid im Vergleich zu Kindern mit hohen Calcitriol-Spiegeln (Tab. 9). Für 25(OH)D konnte dieser Effekt nicht bestätigt werden. Weder Calcitriol noch 25(OH)D-Konzentrationen waren mit Insulinresistenz (HOMA-IR) und den stimulierten Parametern (nach Glukosebelastung) assoziiert (Tab. 10).

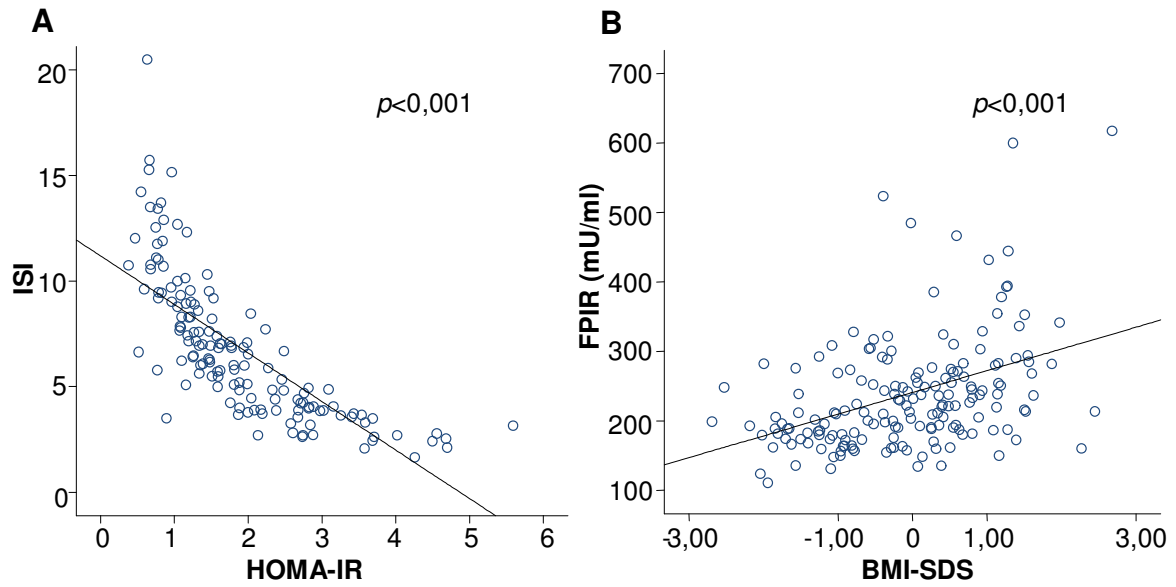


Abb. 13: Korrelation von Insulinsensitivität (ISI) mit HOMA-IR (A) und FPIR mit BMI-SDS (B) in der Typ-1-Diabetes-Risikopopulation.

Tab. 9: Charakteristik der β -Zellfunktionsparameter in der Risikokohorte

	total	25(OH)D (ng/ml)			<i>p</i> -Wert*	Calcitriol (ng/l)			<i>p</i> -Wert†
		Mangel: <20	Unzureichend: 20-30	Optimal: >30		1. Terzil	2. Terzil	3. Terzil	
Insulinresistenz									
HOMA-IR	1,62 ± 1,09	1,69 ± 1,14	1,69 ± 0,90	1,55 ± 1,15	0,7	1,52 ± 0,88	1,49 ± 1,94	1,85 ± 1,30	0,2
Nüchtern-Parameter									
Glukose (mg/dl)	89 ± 7	88 ± 7	90 ± 8	89 ± 7	0,7	88 ± 7	89 ± 7	90 ± 7	0,1
C-Peptid (ng/ml)	1,43 ± 0,63	1,49 ± 0,77	1,45 ± 0,56	1,38 ± 0,58	0,8	1,32 ± 0,54	1,39 ± 0,66	1,57 ± 0,68	0,03
Stimulierte β -Zellfunktion									
FPIR (mU/ml)	138 ± 82	137 ± 88	152 ± 68	134 ± 84	0,5	117 ± 60	146 ± 88	145 ± 87	0,3
AUC C-Peptid (ivGTT)	56 ± 23	54 ± 26	58 ± 18	56 ± 23	0,5	49 ± 17	58 ± 24	59 ± 24	0,09
AUC C-Peptid (oGTT)	672 ± 251	704 ± 306	660 ± 222	643 ± 193	1	689 ± 263	662 ± 318	665 ± 184	0,1
ISI	6,86 ± 3,40	6,95 ± 3,62	6,87 ± 3,33	6,72 ± 3,23	0,4	6,88 ± 2,99	7,21 ± 3,29	6,55 ± 4,00	0,7

Dargestellt sind Mittelwerte ± Standardabweichungen.

*Vergleich zwischen Mangel- und Optimalgruppe, *p*-Werte adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS, Jahreszeit.

†Vergleich zwischen 1. und 3. Terzile, *p*-Werte adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS.

Tab. 10: Einfluss von 25(OH)D und Calcitriol auf β -Zellfunktionsparameter und Insulinresistenz in der Risikokohorte

	25(OH)D			Calcitriol		
	n	Regressions- koeffizient (β)*	p-Wert	n	Regressions- koeffizient (β)*	p-Wert
Insulinresistenz						
HOMA-IR	322	0,001	0,9	321	0,008	0,1
Nüchtern-Parameter						
Glukose (mg/dl)	324	0,044	0,3	322	0,087	0,014
C-Peptid (ng/ml)	324	0,002	0,6	322	0,008	0,003
Stimulierte β-Zellfunktion						
FPIR (mU/ml)	171	0,306	0,6	171	0,274	0,7
AUC C-Peptid (ivGTT)	172	0,195	0,2	172	0,227	0,2
AUC C-Peptid (oGTT)	135	-0,193	0,9	132	-2,674	0,1
ISI	145	-0,014	0,6	143	0,000	1

*adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS und Jahreszeit

4.5.2 Typ-1-Diabetes-Kohorte

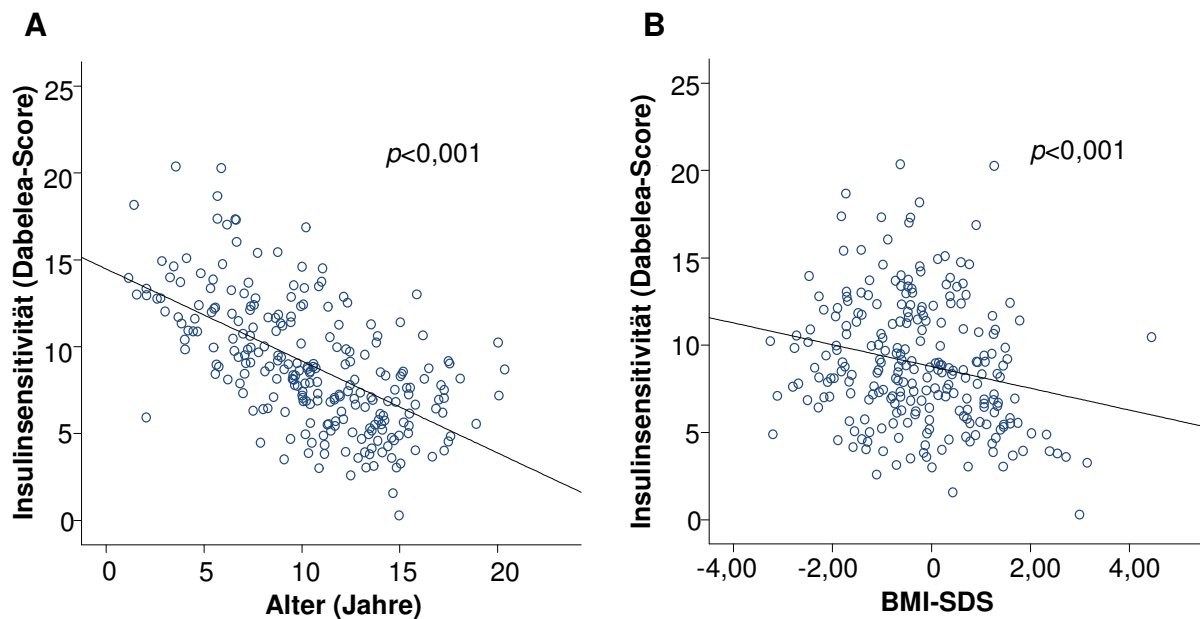
Zur Einschätzung der β -Zellfunktion bei Typ-1-Diabetespatienten wurde die Insulinsensitivität mit Hilfe eines validierten Indexes nach Dabelea et al. (2011) (Dabelea-Score) errechnet (siehe Punkt 3.4). Ein hoher Dabelea-Score ($\geq 8,15$) steht für eine hohe Insulinsensitivität. In der Kohorte der 244 neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten waren die Probanden im Durchschnitt eher insulinsensitiv, mit einem mittleren Score von 8,96 (Tab. 11). Die Insulinsensitivität korrelierte signifikant mit dem Alter ($r=-0,62$; $p=4,74 \times 10^{-27}$) und dem Gewicht (BMI-SDS) ($r=-0,23$; $p=2,81 \times 10^{-4}$) der Probanden (Abb. 14), d.h. mit steigendem Alter und Gewicht nahm die Insulinsensitivität deutlich ab. Die Werte von Nüchtern-C-Peptid zeigten ebenfalls eine deutliche Abhängigkeit vom Alter ($r=0,37$; $p=2,87 \times 10^{-9}$) und Gewicht (BMI-SDS) ($r=0,41$; $p=5,96 \times 10^{-11}$).

Tab. 11: Nüchtern-C-Peptid und Insulinsensitivität in der Typ-1-Diabetes-Kohorte (n=244)

	total	25(OH)D			p-Wert
		Mangel: <20 ng/ml	Unzureichend: 20-30 ng/ml	Optimal: >30 ng/ml	
Nüchtern-C-Peptid (ng/ml), MW ± SD	0,70 ± 0,99	0,79 ± 1,13	0,52 ± 0,40	0,71 ± 1,14	0,5*
Dabelea-Score, MW ± SD	8,96 ± 3,65	8,32 ± 3,43	9,05 ± 3,90	10,45 ± 3,43	0,003*
Insulinresistent (Score <8,15), n (%)	107 (43,9)	63 (50,4)	29 (41,4)	15 (30,6)	5,48 x 10 ⁻⁸ †
Insulinsensitiv (Score ≥8,15), n (%)	137 (56,1)	62 (49,6)	41 (58,6)	34 (69,4)	0,004†

*Vergleich zwischen Mangel- und Optimalgruppe (Regressionsanalyse), *p*-Werte adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS, Jahreszeit

†Vergleich zwischen Mangel- und Optimalgruppe (χ^2 -Test)

**Abb. 14:** Korrelation von Insulinsensitivität (Dabelea-Score) mit Alter (A) und BMI-SDS (B) in der Typ-1-Diabetes-Kohorte.

Bezogen auf die 25(OH)D-Plasmakonzentrationen, zeigten die Ergebnisse der linearen Regressionsanalyse eine signifikante Assoziation mit der Insulinsensitivität. Je höher der 25(OH)D-Spiegel im Blut der Probanden, desto höher war die Insulinsensitivität, unabhängig von Alter, Geschlecht, BMI-SDS und Zeitpunkt der Blutentnahme ($p=0,007$) (Abb. 15). In der Gruppe mit einem Vitamin D-Mangel, waren 50,4 % der Patienten insulinresistent, in der Gruppe mit einem optimalen Versorgungsstatus waren hingegen nur 30,6 % von einer

Insulinresistenz betroffen (Tab. 11). Keinen signifikanten Einfluss hatte der 25(OH)D-Spiegel auf das Nüchtern-C-Peptid (Tab. 12).

Tab. 12: Einfluss von 25(OH)D auf Nüchtern-C-Peptid und Insulinsensitivität in Typ-1-Diabetespatienten

Nüchtern-Parameter	25(OH)D		
	n	Regressionskoeffizient (β)*	p-Wert
C-Peptid	237	0,002	0,6
Insulinsensitivität			
Dabelea-Score	244	0,056	0,007

*adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS und Jahreszeit

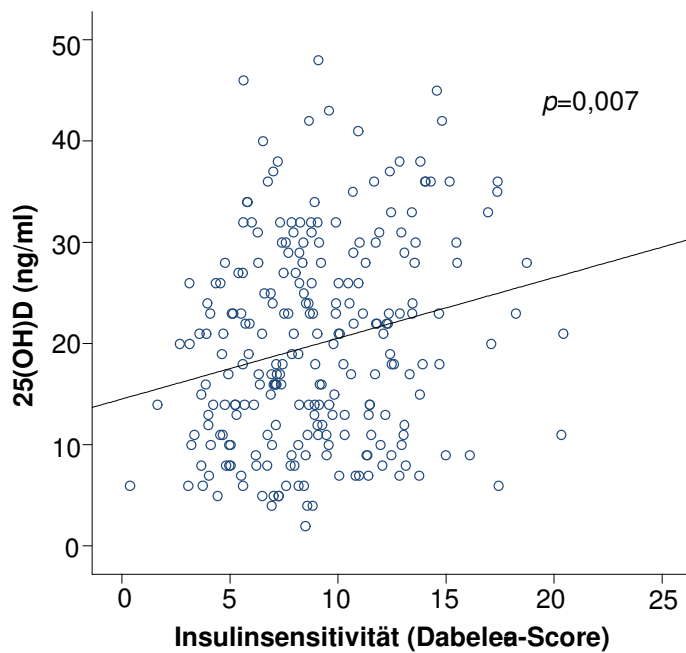


Abb. 15: Korrelation von 25(OH)D-Konzentrationen mit Insulinsensitivität (Dabelea-Score) in der Typ-1-Diabetes-Kohorte.

4.6 Ausprägung ausgewählter Vitamin D-Metabolismus-assoziierter SNPs und deren Einfluss auf die 25(OH)D-Konzentration im Plasma und Parameter der β -Zellfunktion

4.6.1 Vitamin D-Metabolismus-assozierte SNPs und Plasma 25(OH)D-Konzentrationen

Um den Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assozierten SNPs auf die 25(OH)D-Konzentration im Plasma zu untersuchen, wurden in das multivariable Regressionsmodell insgesamt 501 Kinder der Risikokohorte ($n=308$) und mit neu manifestiertem Typ-1-Diabetes ($n=193$) eingeschlossen, bei denen Gendaten vorlagen. Dabei waren *CYP2R1 rs12794714* ($\beta=-2,573$; $p=0,027$) und *DHCR7 rs4945008* ($\beta=-2,642$; $p=0,002$) mit einer signifikanten Erniedrigung des 25(OH)D-Spiegels assoziiert. Nach Korrektur für multiples Testen (Signifikanzniveau $p=0,004$) blieb nur die Assoziation mit *DHCR7 rs4945008* bestehen. Bei allen weiteren SNPs konnte kein statistisch signifikanter Zusammenhang festgestellt werden (Tab. 13).

Betrachtet man *DHCR7 rs4945008*, so lag die mittlere Konzentration bei Probanden mit einem homozygoten Phänotyp bezogen auf das Minor-Allel (AA, $n=42$) bei $22,1 \pm 12,4$ ng/ml und unterschied sich signifikant von der Gruppe mit dem Phänotyp GG ($n=270$; $26,4 \pm 12,7$ ng/ml; $p=0,04$), jedoch nicht von der Gruppe mit dem Phänotyp GA ($n=183$; $26,1 \pm 13,4$ ng/ml; $p=0,09$) (Abb. 16).

Tab. 13: Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf die 25(OH)D-Konzentration (ng/ml)

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	25(OH)D	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel*	p-Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	482	-0,686	0,4
	rs6013897, T>A	477	-0,532	0,6
CYP27A1	rs17470271, A>T	488	0,532	0,5
CYP27B1	rs10877012, G>T	491	-0,389	0,6
CYP2R1	rs1993116, C>T	498	-0,585	0,6
	rs12794714, G>A	468	-2,573	0,027
DHCR7	rs4945008, G>A	495	-2,642	0,002
GC	rs12512631, T>C	501	1,084	0,3
	rs2282679, A>C	474	-0,948	0,4
	rs222040, T>C	501	0,363	0,8
VDR	rs1544410, G>A	500	0,210	0,9
	rs2228570, C>T	474	0,970	0,2
	rs7975232, A>C	457	0,481	0,7

*adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS und Jahreszeit

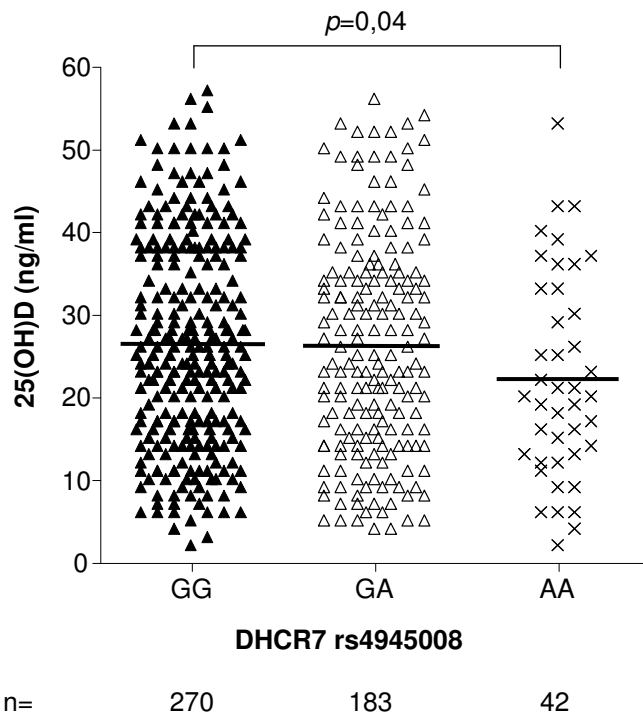


Abb. 16: Vergleich der 25(OH)D-Konzentrationen (schwarze Linie stellt den Mittelwert dar) zwischen den verschiedenen Ausprägungen des SNPs *DHCR7 rs4945008*. Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder in jeder Gruppe.

4.6.2 Vitamin D-Metabolismus-assoziierte SNPs und β -Zellfunktion

Für die Analyse des Zusammenhangs zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs, 25(OH)D-Konzentrationen und β -Zellfunktionsparametern in gesunden Kindern der Risikokohorte (n=308) und Typ-1-Diabetespatienten (n=193) wurde ebenfalls ein multivariablen lineares Regressionsmodell verwendet, in dem die β -Zellfunktionsparameter als abhängige Variablen in das Modell gingen. Um den Effekt der 25(OH)D-Konzentrationen abzuschätzen, wurden zwei Modelle berechnet und gegenübergestellt: Modell 1 zeigt die Assoziationen der einzelnen SNPs mit der jeweils abhängigen Variable unter Berücksichtigung der Störfaktoren Alter, Geschlecht und BMI-SDS; Modell 2 berücksichtigt alle unter Modell 1 genannten Faktoren, inklusive der 25(OH)D-Konzentration und der Jahreszeit.

Nach Annahme eines Signifikanzniveaus von $p=0,004$ (Bonferroni-Korrektur für multiples Testen) zeigten sich in der Risikokohorte für *VDR rs2228570* schwache Assoziationen mit Nüchtern-C-Peptid ($\beta=-0,171$; $p=0,006$ im Modell 1) (Tab. 16) und der AUC C-Peptid nach ivGTT ($\beta=-10,569$; $p=0,003$ im Modell 1) (Tab. 18). Pro Minor-Allel war sowohl Nüchtern-C-Peptid als auch die AUC C-Peptid reduziert. Durch Einbeziehung von 25(OH)D in das Regressionsmodell verstärkte sich der Effekt für Nüchtern-C-Peptid ($\beta=-0,192$; $p=0,002$ im Modell 2) und blieb gleich für AUC C-Peptid im ivGTT ($\beta=-10,504$; $p=0,003$ im Modell 2). Alle weiteren SNPs zeigten keine statistisch gesicherten Zusammenhänge mit Insulinresistenz, Nüchtern-Parameter und stimulierter β -Zellfunktion (Tab. 14 bis Tab. 20). In der Kohorte der Typ-1-Diabetespatienten waren weder Nüchtern-C-Peptid (Tab. 21), noch Insulinsensitivität (Tab. 22) von den Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs signifikant beeinflusst.

Tab. 14: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Insulinresistenz (HOMA-IR) in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	308	-0,007	1	0,040	0,7
	rs6013897, T>A	308	-0,104	0,4	-0,107	0,4
CYP27A1	rs17470271, A>T	308	0,026	0,8	-0,010	0,9
CYP27B1	rs10877012, G>T	308	-0,123	0,3	-0,144	0,2
CYP2R1	rs1993116, C>T	308	-0,135	0,4	-0,141	0,4
	rs12794714, G>A	308	-0,059	0,7	-0,064	0,7
DHCR7	rs4945008, G>A	308	0,015	0,9	-0,008	1
GC	rs12512631, T>C	308	-0,262	0,1	-0,282	0,07
	rs2282679, A>C	308	-0,265	0,1	-0,290	0,1
	rs222040, T>C	308	-0,106	0,6	-0,069	0,7
VDR	rs1544410, G>A	308	-0,041	0,8	-0,058	0,7
	rs2228570, C>T	308	-0,245	0,03	-0,292	0,01
	rs7975232, A>C	308	-0,120	0,5	-0,142	0,5

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 15: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-Glukose in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	308	-0,642	0,4	-0,337	0,7
	rs6013897, T>A	308	0,582	0,5	0,669	0,5
CYP27A1	rs17470271, A>T	308	0,116	0,9	-0,021	1
CYP27B1	rs10877012, G>T	308	-0,797	0,3	0,886	0,3
CYP2R1	rs1993116, C>T	308	-1,984	0,07	-1,933	0,08
	rs12794714, G>A	308	-1,504	0,2	-1,328	0,2
DHCR7	rs4945008, G>A	308	-0,675	0,4	-0,688	0,4
GC	rs12512631, T>C	308	-1,927	0,07	-2,153	0,04
	rs2282679, A>C	308	1,119	0,3	1,094	0,3
	rs222040, T>C	308	-1,837	0,1	-1,765	0,1
VDR	rs1544410, G>A	308	1,842	0,1	1,739	0,1
	rs2228570, C>T	308	-0,261	0,7	-0,553	0,5
	rs7975232, A>C	308	1,792	0,2	1,624	0,2

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 16: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-C-Peptid in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	308	-0,022	0,7	0,001	1
	rs6013897, T>A	308	-0,076	0,3	-0,075	0,3
CYP27A1	rs17470271, A>T	308	0,009	0,9	-0,005	0,9
CYP27B1	rs10877012, G>T	308	-0,110	0,08	-0,119	0,06
CYP2R1	rs1993116, C>T	308	-0,071	0,4	-0,070	0,4
	rs12794714, G>A	308	0,040	0,7	0,044	0,6
DHCR7	rs4945008, G>A	308	-0,033	0,6	-0,039	0,6
GC	rs12512631, T>C	308	-0,183	0,03	-0,195	0,02
	rs2282679, A>C	308	-0,226	0,02	-0,231	0,02
	rs222040, T>C	308	0,077	0,4	0,089	0,4
VDR	rs1544410, G>A	308	0,012	0,9	0,003	1
	rs2228570, C>T	308	-0,171	0,006	-0,192	0,002
	rs7975232, A>C	308	0,106	1	-0,016	0,9

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 17: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der FPIR in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	171	13,473	0,4	19,829	0,3
	rs6013897, T>A	171	-22,233	0,2	-20,776	0,2
CYP27A1	rs17470271, A>T	171	-8,860	0,5	-11,060	0,4
CYP27B1	rs10877012, G>T	171	-6,891	0,6	-5,813	0,7
CYP2R1	rs1993116, C>T	171	-0,322	1	-2,696	0,9
	rs12794714, G>A	171	-1,136	1	-3,464	0,9
DHCR7	rs4945008, G>A	171	-9,399	0,6	-8,586	0,6
GC	rs12512631, T>C	171	-15,572	0,5	-16,903	0,4
	rs2282679, A>C	171	-19,671	0,4	-14,750	0,5
	rs222040, T>C	171	13,576	0,6	10,002	0,7
VDR	rs1544410, G>A	171	-19,807	0,4	-18,101	0,4
	rs2228570, C>T	171	-33,444	0,02	-33,449	0,02
	rs7975232, A>C	171	-22,339	0,4	-21,217	0,4

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 18: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der AUC C-Peptid (ivGTT) in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	172	4,411	0,2	6,738	0,1
	rs6013897, T>A	172	-7,757	0,06	-6,760	0,1
CYP27A1	rs17470271, A>T	172	0,440	0,9	-0,614	0,9
CYP27B1	rs10877012, G>T	172	-5,790	0,09	-5,037	0,1
CYP2R1	rs1993116, C>T	172	-0,521	0,9	-0,867	0,9
	rs12794714, G>A	172	1,948	0,7	1,639	0,7
DHCR7	rs4945008, G>A	172	-3,993	0,3	-3,269	0,4
GC	rs12512631, T>C	172	-7,821	0,1	-7,952	0,1
	rs2282679, A>C	172	-10,982	0,04	-8,312	0,1
	rs222040, T>C	172	7,334	0,2	5,990	0,3
VDR	rs1544410, G>A	172	-4,474	0,4	-3,466	0,5
	rs2228570, C>T	172	-10,569	0,003	-10,504	0,003
	rs7975232, A>C	172	-3,771	0,5	-2,828	0,6

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 19: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der AUC C-Peptid (oGTT) in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	135	-25,684	0,5	-37,566	0,4
	rs6013897, T>A	135	-31,369	0,5	-29,727	0,5
CYP27A1	rs17470271, A>T	135	-50,125	0,2	-63,914	0,1
CYP27B1	rs10877012, G>T	135	19,720	0,6	8,060	0,8
CYP2R1	rs1993116, C>T	135	-79,851	0,2	-83,452	0,1
	rs12794714, G>A	135	-19,054	0,7	-29,256	0,6
DHCR7	rs4945008, G>A	135	-4,118	0,9	-13,519	0,7
GC	rs12512631, T>C	135	-17,615	0,7	-2,950	1
	rs2282679, A>C	135	-106,004	0,09	-133,594	0,03
	rs222040, T>C	135	88,966	0,09	123,493	0,03
VDR	rs1544410, G>A	135	8,058	0,9	16,443	0,8
	rs2228570, C>T	135	-59,893	0,1	-70,041	0,07
	rs7975232, A>C	135	42,081	0,5	51,800	0,4

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 20: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und der Insulinsensitivität (ISI) in der Risikokohorte

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	145	0,224	0,7	0,319	0,5
	rs6013897, T>A	145	0,156	0,8	0,164	0,7
CYP27A1	rs17470271, A>T	145	0,518	0,3	0,783	0,1
CYP27B1	rs10877012, G>T	145	-0,209	0,7	0,103	0,8
CYP2R1	rs1993116, C>T	145	0,977	0,2	0,918	0,2
	rs12794714, G>A	145	1,506	0,045	1,571	0,03
DHCR7	rs4945008, G>A	145	0,083	0,9	0,335	0,5
GC	rs12512631, T>C	145	1,145	0,06	1,034	0,08
	rs2282679, A>C	145	0,423	0,6	1,155	0,1
	rs222040, T>C	145	0,125	0,9	-0,547	0,4
VDR	rs1544410, G>A	145	-0,520	0,5	-0,575	0,4
	rs2228570, C>T	145	0,549	0,3	0,853	0,08
	rs7975232, A>C	145	-0,626	0,4	-0,537	0,5

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 21: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Nüchtern-C-Peptid bei Typ-1-Diabetespatienten

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	<i>p</i> -Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	193	-0,055	0,5	-0,056	0,5
	rs6013897, T>A	193	-0,070	0,5	-0,060	0,5
CYP27A1	rs17470271, A>T	193	0,096	0,3	0,086	0,3
CYP27B1	rs10877012, G>T	193	-0,022	0,8	-0,026	0,8
CYP2R1	rs1993116, C>T	193	-0,010	0,9	-0,023	0,9
	rs12794714, G>A	193	0,101	0,4	0,109	0,4
DHCR7	rs4945008, G>A	193	0,030	0,7	0,040	0,7
GC	rs12512631, T>C	193	0,218	0,09	0,214	0,1
	rs2282679, A>C	193	0,130	0,3	0,151	0,3
	rs222040, T>C	193	0,000	1	-0,018	0,9
VDR	rs1544410, G>A	193	-0,244	0,08	-0,241	0,08
	rs2228570, C>T	193	-0,069	0,4	-0,071	0,4
	rs7975232, A>C	193	-0,114	0,4	-0,130	0,4

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

Tab. 22: Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und Insulinsensitivität (Dabelea-Score) bei Typ-1-Diabetespatienten

Gen	SNP, Allele (major>minor)	n	Modell 1*		Modell 2†	
			Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert	Regressionskoeffizient (β) für das Minor-Allel	p-Wert
CYP24A1	rs2296241, A/G	193	-0,238	0,5	-0,254	0,4
	rs6013897, T>A	193	-0,485	0,2	-0,445	0,2
CYP27A1	rs17470271, A>T	193	-0,197	0,6	-0,340	0,3
CYP27B1	rs10877012, G>T	193	0,380	0,3	0,375	0,3
CYP2R1	rs1993116, C>T	193	0,884	0,1	0,725	0,2
	rs12794714, G>A	193	0,433	0,4	0,470	0,4
DHCR7	rs4945008, G>A	193	-0,156	0,7	0,019	1
GC	rs12512631, T>C	193	-0,711	0,2	-0,756	0,1
	rs2282679, A>C	193	0,651	0,2	0,798	0,1
	rs222040, T>C	193	-1,328	0,03	-1,430	0,02
VDR	rs1544410, G>A	193	0,278	0,6	0,323	0,6
	rs2228570, C>T	193	-0,203	0,6	-0,227	0,5
	rs7975232, A>C	193	-0,003	1	-0,131	0,8

*Modell 1: adjustiert für Alter, Geschlecht, BMI-SDS. †Modell 2: adjustiert wie Modell 1 plus 25(OH)D und Jahreszeit

4.7 Entwicklung von Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter in Abhängigkeit von Geschlecht, Pubertätsstadien und Inselautoantikörperstatus bei Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko

siehe auch: Raab et al. (2013)

Für alle nachfolgend genannten Analysen wurden 1848 Nüchtern-Blutproben (1529 von Kindern der BABYDIAB und 319 von Kindern der TEENDIAB Studie) von insgesamt 1177 Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko in verschiedenen Altersstufen untersucht (s. Punkt 3.1.5). Von 1177 Kindern waren 120 Inselautoantikörper-positiv (≥ 1 positive Inselautoantikörper) oder entwickelten Inselautoantikörper während des Follow up.

Bei den Mädchen stieg die Insulinresistenz kontinuierlich vom 5. Lebensjahr an und erreichte im Alter von 13 Jahren mit einem mittleren HOMA-IR von 2,31 ($\pm 0,20$) ihren höchsten Wert. Der mittlere jährliche Anstieg betrug 0,09 (95 % KI: 0,08-0,10). Die Jungen erreichten die höchste Insulinresistenz im Alter von 14 Jahren mit einem mittleren HOMA-IR von 2,24 ($\pm 0,18$). Der Anstieg verlief ebenfalls konstant und betrug im Mittel 0,07 (95 % KI: 0,06-0,08) pro Jahr (Tab. 23). Nach Erreichen des Insulinresistenzpeaks sank der HOMA-IR in beiden Geschlechtern wieder ab.

Mädchen hatten tendenziell immer etwas höhere HOMA-IR Werte im Verlauf. Im Alter von 8 ($p=0,02$), 11 ($p=2,56 \times 10^{-7}$), 12 ($p=0,001$) und 13 Jahren ($p=0,006$) war der Unterschied zwischen Mädchen und Jungen statistisch signifikant (Abb. 17A). Alle p -Werte wurden für Gewicht (BMI-SDS), Studientyp (TEENDIAB/BABYDIAB) und Messwiederholung korrigiert.

Der Beginn der Pubertät (repräsentiert durch das Erreichen von Tannerstadium 2) setzte bei 80,4 % aller Kinder im Alter zwischen 10 und 12 Jahren ein. Aus Abb. 17 geht deutlich hervor, dass der Anstieg der Insulinresistenz bereits mehrere Jahre vor dem Beginn der Pubertät einsetzte, wenn man beide Ergebnisse zeitlich gegenüber stellt. Im Alter von 14 Jahren befanden sich bereits 97,5 % (95 % KI: 96,1-98,9) aller Kinder in der Pubertät (Abb. 17B). Das mittlere Alter für den Pubertätseintritt war 11,2 Jahre ($\pm 0,06$), wobei sich Mädchen ($11,2 \pm 0,07$ Jahre) und Jungen ($11,2 \pm 0,09$ Jahre) nicht signifikant unterschieden. Im Alter von 13 Jahren, dem Zeitraum mit den höchsten HOMA-IR Werten (Insulinresistenzpeak), befanden sich 17,4 % (95 % KI: 12,7-22,1) der Mädchen bereits in der Spätphase der Pubertät (Tannerstadium 4 oder 5). Bei den Jungen berichteten im Alter von 14 Jahren (Insulinresistenzpeak) 64,1 % (95 % KI: 57,2-71,0) Tannerstadium 4 oder 5.

Tab. 23: HOMA-IR, BMI und BMI-SDS und Anzahl der untersuchten Jungen und Mädchen der BABYDIAB/TEENDIAB Studien in den verschiedenen Altersstufen

Alter (Jahre)	n	HOMA-IR	BMI	BMI-SDS
		(MW \pm SEM)	(MW \pm SEM)	(MW \pm SEM)
Jungen				
5	4	0,36 (0,03)	15,77 (0,07)	0,11 (0,04)
6	7	0,49 (0,11)	16,16 (0,28)	0,29 (0,16)
7	15	0,76 (0,13)	16,42 (0,23)	0,24 (0,11)
8	264	0,93 (0,05)	16,51 (0,11)	0,06 (0,05)
9	71	1,05 (0,07)	17,13 (0,25)	0,15 (0,10)
10	53	1,13 (0,07)	17,64 (0,36)	0,08 (0,12)
11	281	1,29 (0,05)	18,41 (0,15)	0,15 (0,05)
12	82	1,42 (0,09)	18,51 (0,29)	0,02 (0,10)
13	33	1,65 (0,19)	19,74 (0,48)	0,16 (0,14)
14	105	2,24 (0,18)	20,93 (0,24)	0,35 (0,06)
15	32	1,65 (0,21)	21,05 (0,40)	0,29 (0,12)
Mädchen				
5	4	0,42 (0,10)	15,64 (0,07)	0,07 (0,04)
6	9	0,68 (0,16)	15,86 (0,27)	0,06 (0,16)
7	11	0,75 (0,22)	15,83 (0,25)	-0,09 (0,13)
8	219	1,02 (0,05)	16,31 (0,12)	-0,03 (0,05)
9	85	1,19 (0,09)	17,25 (0,27)	0,15 (0,10)
10	54	1,40 (0,14)	18,20 (0,38)	0,26 (0,12)
11	267	1,70 (0,06)	18,16 (0,16)	0,04 (0,05)
12	70	2,06 (0,18)	18,69 (0,35)	0,01 (0,10)
13	33	2,31 (0,20)	19,25 (0,47)	-0,09 (0,15)
14	116	2,12 (0,09)	20,56 (0,23)	0,23 (0,07)
15	35	1,80 (0,19)	21,39 (0,44)	0,28 (0,13)

Die Werte sind als Mittelwert (MW) \pm Standardfehler (SEM) angegeben.

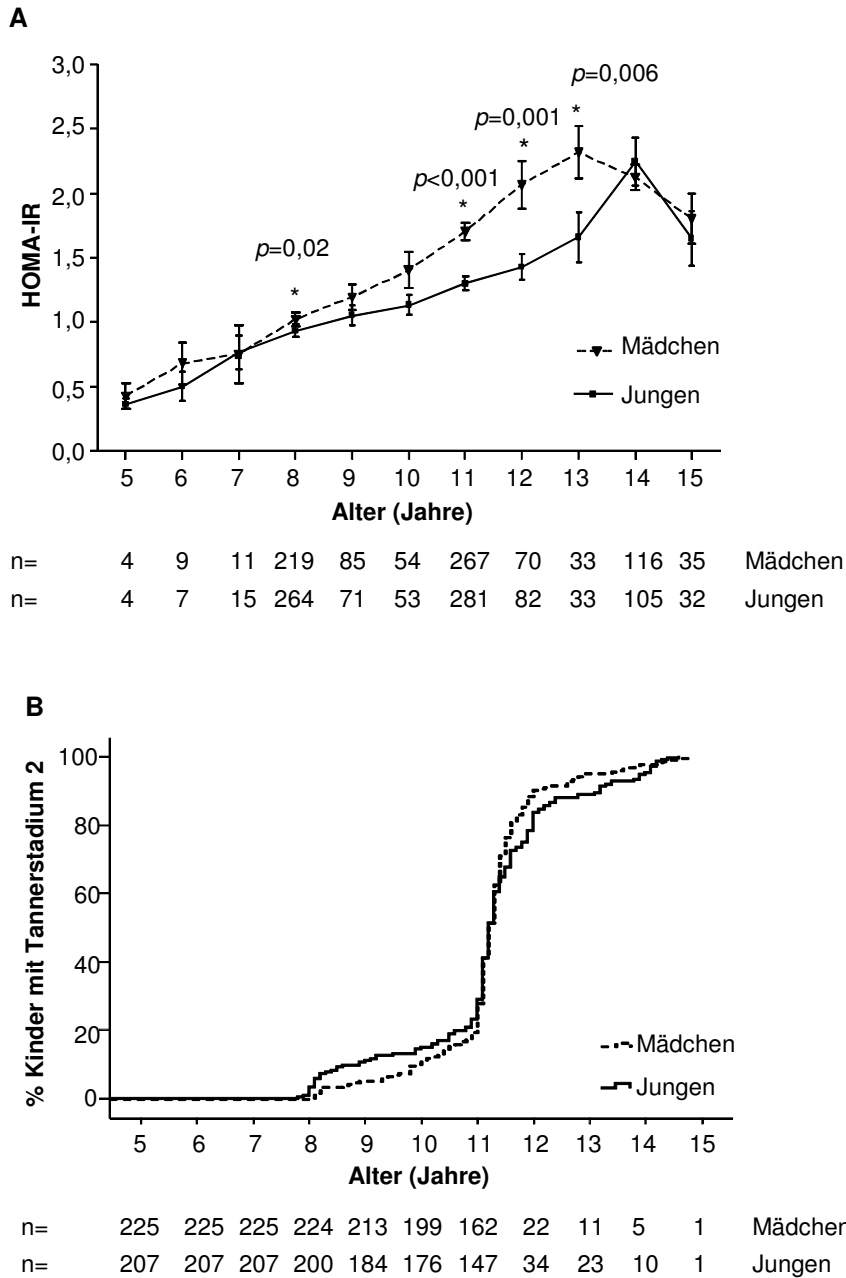


Abb. 17: (A) HOMA-IR (MW \pm SEM) von Mädchen (gestrichelte Linie) und Jungen (schwarze Linie) der BABYDIAB/TEENDIAB Studien. Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder in jeder Altersgruppe. p -Werte wurden adjustiert für Studie, BMI-SDS und Messwiederholung. (B) Kumulativer Anteil an Mädchen (gestrichelte Linie) und Jungen (schwarze Linie) mit Tannerstadium 2. Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der verbliebenen Kinder je Altersgruppe mit Tannerstadium 1.

Betrachtet man das Vorhandensein von Inselautoantikörpern in Bezug auf die Entwicklung und den Verlauf von Insulinresistenz, so unterscheiden sich Inselautoantikörper-positive Kinder nicht signifikant von Kindern ohne Inselautoimmunität.

Der mittlere jährliche Anstieg des HOMA-IR bei Inselautoantikörper-positiven und -negativen Mädchen vom 5. bis zum 13. Lebensjahr verlief identisch (0,09; 95 % KI: 0,06-0,11 vs. 0,09; 95 % KI: 0,07-0,10). Beide Gruppen erreichten den Insulinresistenzpeak im Alter von 13 Jahren mit einem mittleren HOMA-IR von $2,40 \pm 0,38$ SEM bei Inselautoantikörper-positiven und $2,26 \pm 0,23$ SEM bei Inselautoantikörper-negativen Mädchen (Abb. 18A). Inselautoantikörper-positive Mädchen unterschieden sich hinsichtlich Insulinresistenz zu keinem Zeitpunkt von Mädchen ohne Inselautoantikörper. Bei den Jungen unterschieden sich Inselautoantikörper-positive ebenfalls nicht von Inselautoantikörper-negativen Kindern. Bis zum 14. Lebensjahr verlief der mittlere jährliche Anstieg in beiden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich (AK-: 0,07; 95 % KI: 0,06-0,08 vs. AK+: 0,07; 95 % KI: 0,05-0,09) und der HOMA-IR war zu keinem Zeitpunkt zwischen beiden Gruppen unterschiedlich (Abb. 18B). Ebenfalls keinen Einfluss hatte der Inselautoantikörperstatus auf den Pubertätsbeginn. So kamen Inselautoantikörper-positive und negative Mädchen (Tannerstadium 2: MW $11,2 \pm 0,25$ Jahre vs. $11,1 \pm 0,07$ Jahre), sowie Inselautoantikörper-positive und negative Jungen (Tannerstadium 2: MW $11,5 \pm 0,26$ Jahre vs. $11,1 \pm 0,12$ Jahre) fast zeitgleich in die Pubertät (Abb. 18C/D).

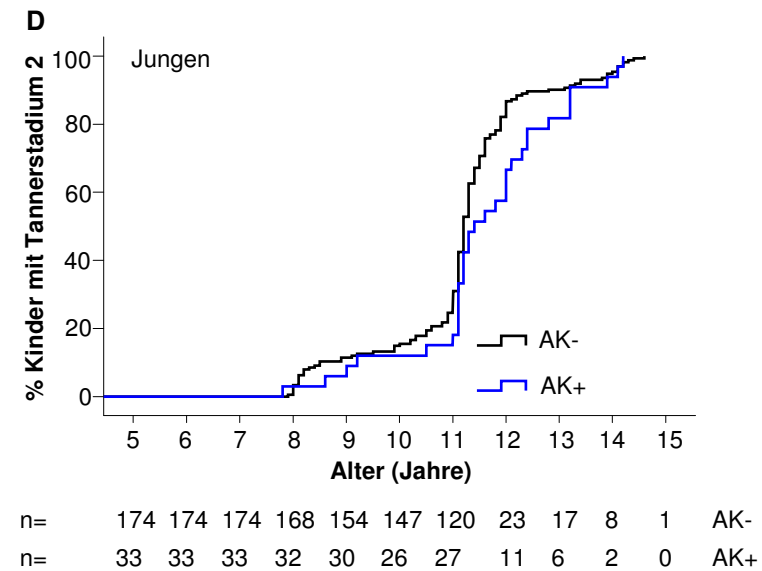
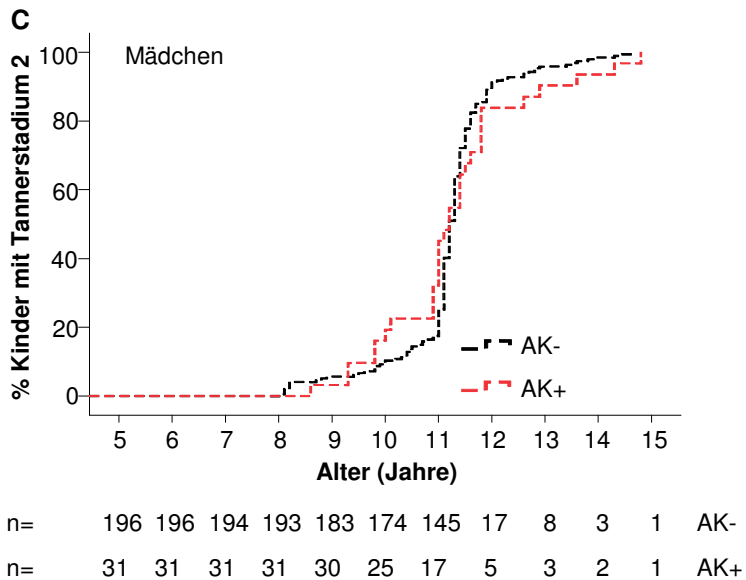
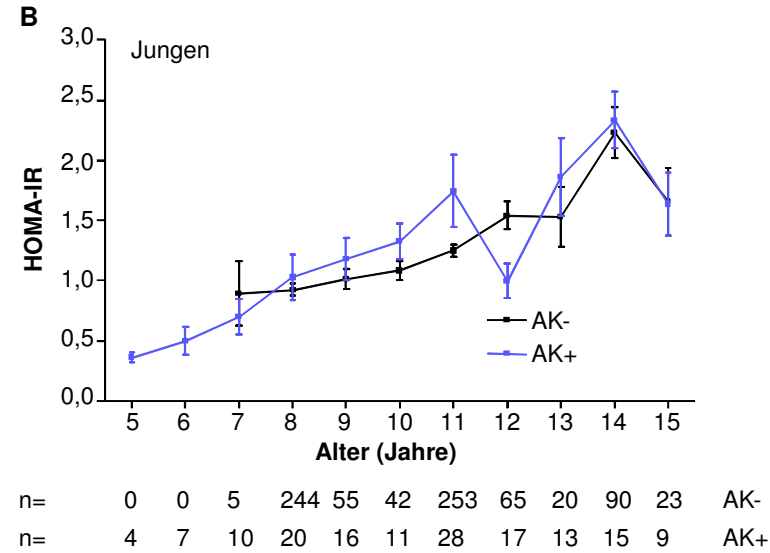
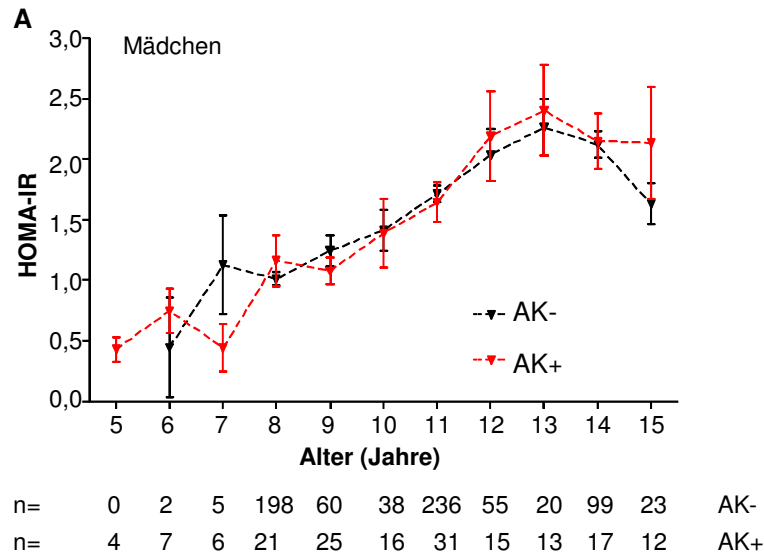


Abb. 18: (A, B) HOMA-IR (MW \pm SEM) in Inselautoantikörper-negativen (AK-) und positiven (AK+) Mädchen (A) und Jungen (B). Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der Kinder in jeder Altersgruppe. (C, D) Kumulativer Anteil an Mädchen (C) und Jungen (D) mit Tannerstadium 2, unterteilt in AK- und AK+ Kinder. Die Zahlen unter der x-Achse repräsentieren die Anzahl der verbliebenen Kinder je Altersgruppe mit Tannerstadium 1.

5. Diskussion

Der autoimmune Typ-1-Diabetes entsteht meist bereits Jahre vor der klinischen Manifestation. In dieser Phase des sogenannten Prädiabetes zeigen die Betroffenen noch keinerlei pathologische Veränderungen des Stoffwechsels, jedoch ist der Autoimmunprozess bereits fortgeschritten und durch Diabetes-assoziierte Inselautoantikörper im Blut eindeutig nachweisbar. Eine erst kürzlich erschienene Arbeit von Ziegler et al. (2013) verdeutlicht die Wichtigkeit und Validität der Inselautoantikörper-Messungen. In der Studie wurden über 10 000 Kinder mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes (teilweise genetisch, teilweise familiär) nachuntersucht. Das Risiko, einen Typ-1-Diabetes zu entwickeln, lag für die Kinder mit zwei oder mehr positiven Diabetes-Antikörpern 10 Jahre nach dem ersten Nachweis bei 70 %. Nach 15 Jahren geht das Risiko tendenziell bereits gegen 100 %. Das Risiko für Kinder mit nur einem positiven Inselautoantikörper bzw. Kinder ohne Inselautoimmunität, lag hingegen nur bei 15 % bzw. 0,4 %. Aus diesem Grund scheint es umso wichtiger zu sein, die prädiabetische Phase besser zu charakterisieren und potentielle Einflussfaktoren auf den Autoimmunprozess ausfindig zu machen und zu untersuchen. Neben genetischer und familiärer Prädisposition, scheinen es hauptsächlich variable exogene Faktoren zu sein, die den Prädiabetes beeinflussen und den Verlauf dieser Phase prägen (Atkinson und Eisenbarth, 2001, Achenbach et al., 2005). Besonders im Hinblick auf die Primärprävention spielt die Erforschung der Umweltfaktoren eine große Rolle, da diese in gewissen Grenzen beeinflussbar sind.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, die Rolle von zwei, mit dem Typ-1-Diabetes bereits assoziierten Risikofaktoren in der Phase des Prädiabetes zu untersuchen und ihren Einfluss auf die Erkrankungsprogression abzuklären. Die Frage, ob Vitamin D-Status und Insulinresistenz bereits im Vorfeld einer Typ-1-Diabetesmanifestation Auswirkungen auf Inselautoimmunität und Erkrankungsprogression haben, sollte anhand eines Typ-1-Diabetes-Risikokollektivs und Kindern mit einer neu manifestierten Erkrankung beantwortet werden.

5.1 Vitamin D-Status im Prädiabetes und dessen Einfluss auf die Typ-1-Diabetes-Progressionsrate

Der Vitamin D-Versorgungsstatus einer Person wird am besten durch die Calcidiol-Konzentration im Blut repräsentiert, da dieser Vitamin D-Metabolit nur unzureichend reguliert ist und die Konzentration erwiesenermaßen proportional mit der Aufnahme bzw. Sonnenexposition fällt oder steigt (Dusso et al., 2005, Norman, 2008, Ströhle et al., 2011).

Die 25(OH)D-Konzentrationen hängen von verschiedenen Faktoren ab. Den stärksten Einfluss übt hierbei, auf Grund der natürlichen Biosynthese des Vitamin D in der Haut, die Exposition zu UV-B-Strahlung aus. In den nördlichen Breitengraden liegt eine natürliche Jahreszeit-bedingte Schwankung der Stärke der UV-B-Strahlung vor und somit auch der 25(OH)D-Konzentrationen (Maxwell, 1994). Dieser Effekt hatte in der vorliegenden Arbeit sowohl in der Kohorte der gesunden nicht-diabetischen Kinder, als auch bei den Typ-1-Diabetespatienten den stärksten Einfluss auf die 25(OH)D-Konzentrationen. Interessanterweise zeigten sich die Differenzen in 25(OH)D-Konzentrationen vorzugsweise in den Sommermonaten. So hatten die Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern und Typ-1-Diabetespatienten während der Monate mit der längsten Sonnenscheindauer niedrigere 25(OH)D-Spiegel und wiesen generell eine geringere jahreszeitliche Variabilität auf, im Vergleich zu Inselautoantikörper-negativen Kindern. In den Wintermonaten verlor sich dieser Effekt. Das Ergebnis steht im Einklang mit einer Untersuchung von Baumgartl et al. (1991), die zeigten, dass Typ-1-Diabetespatienten hauptsächlich im Sommer niedrigere Vitamin D-Spiegel hatten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen.

Die jahreszeitliche Schwankung der Vitamin D-Spiegel gilt heutzutage als eindeutig gesichert. So kann das Wiederfinden von jahreszeitlichen Differenzen in den hier untersuchten Kohorten als Validitätsnachweis für die 25(OH)D-Messungen gesehen werden. Weitere neueste Studien, die diesen Effekt ebenfalls zeigten, sind die Arbeiten von Kasahara et al. (2013), die in über 3,4 Mio. Serumproben von US-Amerikanern einen deutlichen jahreszeitlichen Verlauf der 25(OH)D-Konzentrationen sahen, und die Untersuchung von 2100 deutschen Probanden der EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) Studie, in der die Jahreszeit allein als stärkster Faktor ca. 14,6 % der Varianz in den 25(OH)D-Konzentrationen erklären konnte (Kühn et al., 2013). Als eine weitere Einflussgröße stellte sich das Alter der Probanden heraus. So zeigte sich in jeder, in dieser Arbeit untersuchten Studienpopulation, dass mit zunehmendem Alter der Kinder auch die durchschnittliche 25(OH)D-Konzentration abnahm. Das Ergebnis bestätigt vorherige Untersuchungen, die sowohl in großen Kohortenstudien mit nicht-diabetischen Kindern wie

z.B. in DAISY (Simpson et al., 2011), der NHANES Studie (Kumar et al., 2009) und der deutschen KiGGS (Kinder- und Jugendgesundheitssurveys) Studie (Thierfelder et al., 2007), aber auch Kindern mit Typ-1-Diabetes (Svoren et al., 2009) eine altersabhängige Abnahme der 25(OH)D-Spiegel nachwies. Interessanterweise konnte bei Kindern der Risikokohorte, von denen Daten über die übliche Ernährung vorhanden waren, kein Zusammenhang zwischen dem Plasma 25(OH)D-Spiegel und der Aufnahme von Vitamin D über die Nahrung festgestellt werden. Damit steht das Ergebnis im Kontrast zu Untersuchungen in der DAISY Kohorte, die einen deutlichen Einfluss des Vitamin D aus der Nahrung auf die 25(OH)D-Plasmakonzentration ($\beta=1,54$, $p<0,001$) zeigten (Simpson et al., 2011). Dieser Effekt könnte durch die übliche Supplementierung vieler Nahrungsmittel in den USA hervorgerufen sein. So enthält z.B. Milch in den USA bereits ca. 400 IU Vitamin D pro Liter, in Deutschland hingegen sind solche Produkte bislang nicht erhältlich. Insgesamt nahmen die 268 Kinder der BABYDIAB/TEENDIAB Studien mit durchschnittlich 2,1 μg sehr wenig Vitamin D über die Nahrung zu sich und lagen weit unter der empfohlenen Menge von 20 $\mu\text{g}/\text{d}$ (D-A-CH, 2013). Ein Nachteil der verwendeten Ernährungserhebungsmethode war es, dass keine Angaben zu eventuell eingenommenen Nahrungsergänzungsmitteln gemacht werden konnten und mit Vitaminen angereicherte Lebensmittel nicht berücksichtigt wurden. Das Ergebnis spiegelt jedoch auch die reelle Annahme wider, dass nur ca. 10 bis 20 % des endogenen Vitamin D Pools aus der Nahrung stammt (Holick, 2007) und somit der Einfluss des Nahrungs-Vitamin D relative klein wäre.

Die einzig signifikante Einflussgröße auf das biologisch aktive Calcitriol, welches als zusätzlicher Parameter in 327 Serumproben der Risikokohorte gemessen wurde, war das Alter. Es zeigte sich hier eine positive Korrelation. Ansonsten war der Calcitriol-Spiegel unabhängig von weiteren Faktoren wie Geschlecht, Jahreszeit, 25(OH)D-Konzentration oder der Vitamin D-Zufuhr aus der Nahrung. In der Literatur existieren bisher keine Angaben zu Calcitriol-Serumkonzentrationen in gesunden Kindern, die keiner Intervention mit z.B. einem Calcitriol-Präparat unterliegen. Die Bestimmung von Calcitriol im Blut kann auch nur als eine Momentaufnahme gesehen werden, da die Calcitriol-Synthese vom Körper streng reguliert wird (im Gegensatz zu 25(OH)D₃) und die Halbwertszeit des zirkulierenden Calcitriols daher nur sehr kurz ist (12 bis 36 Stunden) (Ströhle et al., 2011, Jongen et al., 1987).

Die höchste Prävalenz für einen Vitamin D-Mangel hatten die Kinder mit einem neu manifestierten Typ-1-Diabetes. Die Hälfte (51 %) dieser Kinder wiesen einen 25(OH)D-Spiegel unter 20 ng/ml auf und die mittlere Konzentration lag bei nur 19,9 ng/ml. Dieses Ergebnis bestätigt zahlreiche Studien aus den USA (Svoren et al., 2009, The et al., 2013), der

Schweiz (Janner et al., 2010) und Italien (Pozzilli et al., 2005), die alle aufzeigten, dass Kinder mit Typ-1-Diabetes signifikant häufiger von einem Vitamin D-Mangel betroffen sind, als gesunde Kontrollpersonen. Darüber hinaus stellten Wissenschaftler im Rahmen der Diabetes Inzidenz Studie in Schweden (DISS) fest, dass Typ-1-Diabetespatienten im Vergleich zu gesunden Probanden, nicht nur bei Manifestation einen niedrigeren Vitamin D-Spiegel aufwiesen, sondern sogar noch 8 Jahre danach (Littorin et al., 2006). Es sind verschiedene Hypothesen in der Literatur beschrieben, um den Vitamin D-Mangel zu erklären. Zum einen reagierten Typ-1-Diabetespatienten in einer Studie im Vergleich zu nicht-diabetischen Kontrollen sensitiver auf ultraviolettes Licht und ihre Hautpigmentierung war nicht so stark ausgeprägt (Ziegler et al., 1990). Dies könnte zur Folge haben, dass Typ-1-Diabetespatienten starke Sonnenexposition meiden und somit den niedrigeren Vitamin D-Spiegel erklären. Im Tiermodell wurde wiederum die Abnahme des DBP (Vitamin D-bindendes Protein) in diabetischen Ratten beobachtet (Nyomba et al., 1989), mit der möglichen Konsequenz, dass die Vorstufen des Vitamin D nicht zu den Zielorganen transportiert werden können, um dort physiologisch aktiviert zu werden. Ein weiterer denkbarer Grund wäre, dass der Vitamin D-Mangel bei Manifestation auch ein Nebeneffekt der Ketoazidose sein könnte, von der viele neu manifestierte Typ-1-Diabetespatienten betroffen sind (Huynh et al., 2009).

Am besten mit Vitamin D versorgt, waren die gesunden Kinder ohne Anzeichen von Inselautoimmunität. Von den 406 Inselautoantikörper-negativen Kindern hatten nur 28 % einen Vitamin D-Mangel. Somit tritt ein Vitamin D-Mangel bei Inselautoantikörper-negativen Kindern deutlich seltener auf als bei Kindern der KiGGS Studie. In einer Untersuchung mit über 7000 Kindern (ohne Migrationshintergrund) im Alter von 3 bis 17 Jahren hatten 45 % der Kinder 25(OH)D-Konzentrationen zwischen 10 und 20 ng/ml (Hintzpeter et al., 2008). Eine mögliche Ursache für die Diskrepanz zwischen den Studien, kann die jahreszeitliche Abhängigkeit der Vitamin D-Spiegel sein. Wie bereits beschrieben liegen die 25(OH)D-Konzentrationen in den Sommermonaten deutlich höher als im Winter. Während die Blutentnahmen bei den Inselautoantikörper-negativen Kindern zu 60 % in den Sommermonaten stattfanden, erfolgten über die Hälfte der Probenentnahmen in der Studie von Hintzpeter et al. (2008) im Winter.

Eine neue Erkenntnis, die bisher noch nie in der Literatur beschrieben wurde, charakterisiert den Vitamin D-Status im Prädiabetes. Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern wiesen signifikant niedrigere 25(OH)D-Konzentrationen auf, als gesunde Kinder ohne Inselautoantikörper. Der starke Altersunterschied zwischen der Gruppe der

Inselautoantikörper-negativen (Median: 9,9 Jahre) Kinder und der Gruppe mit multiplen Inselautoantikörpern (Median: 3,9 Jahre) könnte dieses Ergebnis, trotz statistischer Korrektur für das Alter, abschwächen. Jedoch wurde das Ergebnis durch eine Analyse basierend auf einer Fall-Kontroll-Studie bestätigt. Dazu wurde jedem der 108 Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern ein passendes Kind (gleiches Alter, Geschlecht, Blutentnahmezeitpunkt) ohne Inselautoantikörper zugeordnet und die 25(OH)D-Konzentrationen miteinander verglichen. Ein weiteres Argument für das Resultat, basiert auf der bereits beschriebenen starken Altersabhängigkeit der 25(OH)D-Konzentrationen. Demzufolge müssten gerade jüngere Kinder einen höheren Vitamin D-Spiegel aufweisen. Unsere Analyse zeigt jedoch das Gegenteil. Es ist anzunehmen, dass das Vorhandensein von Inselautoimmunität einen noch stärkeren Effekt auf die Vitamin D-Spiegel ausübt als das Alter. In jedem Fall lässt dieses Ergebnis Rückschlüsse zu, dass ein Vitamin D-Mangel möglicherweise nicht erst bei Diabetesmanifestation auftritt, sondern bereits in der prädiabetischen Phase eine Rolle spielt. Um diese Frage näher zu untersuchen, wurde der Einfluss eines Vitamin D-Mangels auf die Typ-1-Diabetes-Progressionsrate analysiert. Dafür wurden bei 108 Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern die 25(OH)D-Spiegel 12 bis 24 Monate nach Serokonversion bestimmt. Die Nachuntersuchungszeit betrug bis zu 15 Jahre und innerhalb dieses Zeitraums entwickelten 53 Kinder einen manifesten Typ-1-Diabetes. Es zeigte sich, dass das Risiko einen Typ-1-Diabetes zu entwickeln, unabhängig war vom Vitamin D-Status, gemessen 1 bis 2 Jahre nach dem erstmaligen Auftreten von Inselautoantikörpern. Damit widersprechen diese Ergebnisse zwei vorausgegangenen Arbeiten von Gorham et al. (2012) und Munger et al. (2013), die in ihren Studien zeigten, dass das Typ-1-Diabetesrisiko besonders hoch war, wenn die Vitamin D-Spiegel vor Manifestation niedrig waren im Vergleich zu Personen, die höhere Vitamin D-Konzentrationen aufwiesen. Trotz allem sind diese Studien nur bedingt vergleichbar mit der vorliegenden Analyse. Da es sich im Militärpersonen handelte, waren die Studienteilnehmer erwachsen und zum größten Teil männlich (>90 %). Weiterhin wurden in der Studie von Gorham et al. (2012) alle insulinabhängigen Diabetesfälle eingeschlossen, ohne eine Differenzierung zwischen Typ 1 und Typ 2. Man kann vermuten, dass die Ursachen die zum Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter führen, sich von denen im Erwachsenenalter unterscheiden, da die vorliegenden Ergebnisse auch eine Untersuchung bei Kindern in der DAISY Studie bestätigen. Simpson et al. (2011) fanden keinen Zusammenhang zwischen der Vitamin D-Aufnahme über die Nahrung und der 25(OH)D-Konzentrationen im Hinblick auf die Entwicklung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes. Die 25(OH)D-Spiegel in der DAISY Studie wurden, im Gegensatz zur vorliegenden

Arbeit, im Verlauf mehrmals (longitudinale Analyse) bestimmt. Eine weitere Limitation, der in dieser Arbeit durchgeführten Analyse ist, dass keine Vitamin D-Messung vor Serokonversion vorlag und somit der Einfluss von Vitamin D auf das Auftreten von Inselautoimmunität nicht untersucht werden konnte. Weiterhin wurden, bedingt durch das Studiendesign (s. Punkt 3.1.5), Kinder die sehr schnell an Typ-1-Diabetes erkrankten (innerhalb von 24 Monaten nach Serokonversion, sogenannte *rapid progressors*, s. Achenbach et al. (2013)), von der Analyse ausgeschlossen.

Trotz einiger Studien, die der Supplementierung mit Vitamin D in den ersten Lebensjahren eine protektive Rolle in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes bescheinigen (Stene et al., 2003, EURODIAB-Study-Group, 1999, Hyppönen et al., 2001), scheint der Vitamin D-Status per se keinen Einfluss auf die Erkrankungsprogression auszuüben. Jedoch wurde durch die vorliegende Analyse eindeutig gezeigt, dass ein Vitamin D-Mangel bereits vor der Manifestation eines Typ-1-Diabetes vorliegt und somit nicht als Begleiterscheinung einer Typ-1-Diabetesmanifestation gesehen werden kann. Möglicherweise ist der Vitamin D-Mangel bereits eine Folge des Autoimmunprozesses.

5.2 Einfluss von Vitamin D, sowie von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz

5.2.1 Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf 25(OH)D-Konzentrationen im Plasma

Die Variabilität von 25(OH)D-Konzentrationen zwischen einzelnen Individuen ist teilweise sehr groß. In vorausgegangen Studien wurde beschrieben, dass nur ca. ein Viertel der gefundenen Variabilität durch den Zeitpunkt der Messung (Jahreszeit), geografische Lage und Vitamin D-Zufuhr bestimmt wird (Livshits et al., 1999, Shea et al., 2009). Mittlerweile existiert eine Vielzahl von Studien, die die Rolle der Genetik im Hinblick auf Vitamin D-Spiegel im Blut bekräftigen und diesen Faktor als eine weitere Einflussgröße nennen (Wang et al., 2010, Ahn et al., 2010, Cooper et al., 2011, Levin et al., 2012, Frederiksen et al., 2013b).

In der kombinierten Analyse von 13, mit dem Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs in insgesamt 501 Kindern mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes bzw. mit manifester Erkrankung, waren zwei SNPs mit dem 25(OH)D-Status assoziiert. Pro Minor-Allel der SNPs *CYP2R1 rs12794714* und *DHCR7 rs4945008* stieg das Risiko für erniedrigte 25(OH)D-Konzentrationen. *CYP2R1* codiert für das Enzym, welches den entscheidenden ersten Schritt

im Vitamin D-Metabolismus katalysiert und somit direkt die Synthese von Calcidiol steuert. Diese Behauptung wird gestützt durch eine Fallstudie eines Mannes aus Nigeria, der an einer erblich bedingten Rachitis litt, ausgelöst durch eine Punktmutation im *CYP2R1* Gen (Cheng et al., 2004). Trotz Verlust der statistischen Signifikanz durch Korrektur für multiples Testen, bestätigt das Ergebnis vorangegangene Studien, die ebenfalls die Erniedrigung der 25(OH)D-Konzentrationen in Abhängigkeit verschiedener Ausprägungen von *CYP2R1 rs12794714* beobachteten (Wang et al., 2010, Cooper et al., 2011, Frederiksen et al., 2013b).

Die stärkste und zugleich auch statistische gesicherte Assoziation mit dem Vitamin D-Spiegel der Kinder, hatte der SNP *rs4945008* im Gen *DHCR7* und bestätigt somit die Ergebnisse von Wang et al. (2010), Cooper et al. (2011) und Frederiksen et al. (2013b). Der jeweils bei Cooper et al. (2011) und Frederiksen et al. (2013b) verwendete SNP *rs12785878* befindet sich mit *rs4945008* im *linkage disequilibrium*. *DHCR7* kodiert für ein Enzym, welches 7-Dehydrocholesterol zu Cholesterin synthetisiert und somit das Ausgangssubstrat für Vitamin D entfernt. Hohe Konzentrationen an 7-Dehydrocholesterol schützen jedoch vor Vitamin D-Mangel bedingter Rachitis und Osteomalazie (Porter, 2002).

Beide SNPs waren in der Studie von Cooper et al. (2011) mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes verbunden. Frederiksen et al. (2013b) konnte dies in einer aktuellen Untersuchung innerhalb der amerikanischen DAISY Studie zwar nicht bestätigen, jedoch fand man hier einen statistisch gesicherten Zusammenhang zwischen *DHCR7* und dem Risiko für Inselautoimmunität. Da *DHCR7* sowohl mit dem Vitamin D-Status, als auch mit dem erhöhten Risiko für Inselautoimmunität assoziiert war, vermuteten die Autoren, dass der Effekt des Gens direkt durch die 25(OH)D-Konzentrationen vermittelt wird (Frederiksen et al., 2013b).

Interessanterweise bestand zwischen dem Gen *CYP27B1* und 25(OH)D-Spiegeln im Plasma in den untersuchten Kohorten kein Zusammenhang. Dies wird bekräftigt durch Ergebnisse anderer Studien, die ebenfalls keine Assoziation zwischen dem Gen und dem Vitamin D-Status fanden (Cooper et al., 2011, Frederiksen et al., 2013b, Thorsen et al., 2013). Über die die 1 α -Hydroxylase aktiviert *CYP27B1* Calcidiol zu Calcitriol und seine Assoziation mit Typ-1-Diabetes und Inselautoimmunität wurde bereits mehrfach bestätigt (Bailey et al., 2007, Cooper et al., 2011, Frederiksen et al., 2013b). Vermutlich entfaltet das Gen seine Wirkung hinsichtlich Typ-1-Diabetes nicht durch 25(OH)D-Level, sondern durch Vitamin D-vermittelte Signalwege in Immunzellen (Essen et al., 2010).

5.2.2 Typ-1-Diabetes-Risikokohorte

Ein Vitamin D-Mangel wird schon lange als Risikofaktor für Glukoseintoleranz in Betracht gezogen. Es existieren einige Studien, die belegen, dass 25(OH)D-Konzentrationen in Typ-2-Diabetespatienten signifikant erniedrigt waren, im Vergleich zu nicht-diabetischen Kontrollen (Pietschmann et al., 1988, Scragg et al., 1995). Weiterhin zeigen zwei kürzlich veröffentlichte Metaanalysen, dass ein inverser signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vitamin D-Spiegel im Blut und dem Risiko für Typ-2-Diabetes existiert (Khan et al., 2013, Song et al., 2013). Somit könnte Vitamin D eine Rolle in der Pathogenese des Typ-2-Diabetes spielen, vermutlich durch eine direkte Wirkung auf Insulinsensitivität oder β -Zellfunktion, oder beides. Dafür gibt es, trotz Kontroversen, einige Hinweise. Ein Vitamin D-Mangel war beispielsweise mit gestörter Insulinsekretion assoziiert (Boucher et al., 1995), als auch mit Insulinresistenz (HOMA-IR) und β -Zellfunktion nach oGTT (Kayaniyil et al., 2010). Die Studien wurden zwar mit nicht-diabetischen Personen durchgeführt, diese hatten aber alle ein stark erhöhtes Risiko Typ-2-Diabetes und metabolisches Syndrom zu entwickeln. Da eine gestörte Glukosetoleranz bereits die Insulinsensitivität und β -Zellfunktion beeinträchtigen kann (Rossetti et al., 1990), ist es wichtig den Zusammenhang mit Vitamin D auch in gesunden Personen mit einer normalen Glukosetoleranz und ohne Typ-2-Diabetesrisiko zu ermitteln.

Hierfür wurden 334 normalgewichtige Kinder der Typ-1-Diabetes-Risikopopulation untersucht. Anhand der Untersuchungen zeigte sich, dass die Population im Durchschnitt eine normale Glukosetoleranz und Insulinsensitivität aufzeigte. Im Vergleich zu einer Studie mit ebenfalls gesunden Kindern und Jugendlichen zwischen 9 und 18 Jahren, lagen die Werte für Insulinresistenz (HOMA-IR) und Insulinsensitivität (ISI) auf einem vergleichbaren Niveau (Heinze et al., 2002). Die frühe Insulinsekretion nach intravenöser Glukoseinfusion (FPIR) lag ebenfalls auf einem sehr guten Niveau. Wenn man einen Grenzwert von ca. 53 mU/ml zu Grunde legt (Referenzwert basierend auf Lorini und Vanelli (1996)), dann hatten die Kinder im Durchschnitt mit 183 mU/ml eine sehr gute Insulinsekretion. Eine aktuelle Analyse der DIPP Studie untersuchte ebenfalls die Insulinsekretion von Kindern mit einem erhöhten Risiko für Typ-1-Diabetes (Siljander et al., 2013). Die durchschnittliche FPIR bei den 218 Kindern betrug 36 mU/ml und lag somit weit unter dem Niveau der Risikokohorte in der vorliegenden Arbeit. Mögliche Gründe, die diesen gravierenden Unterschied erklären, sind zum einen der Altersunterschied. Die Kinder in der Arbeit von Siljander et al. (2013) waren bei der Durchführung des ivGTTs erst ca. 4,5 Jahre alt. Da die FPIR positiv mit dem Alter korreliert, kann man davon ausgehen, dass ältere Kinder physiologisch bedingt eine höhere

Insulinsekretion aufzeigen. Ein weiterer Grund für die Diskrepanz zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit, könnte die fortgeschrittene Inselautoimmunität der Kinder aus der DIPP Studie sein, da alle 218 Probanden zum Zeitpunkt des ivGTTs bereits persistierende multiple Inselautoantikörper hatten. Eine erniedrigte FPIR, als ein früher Marker der gestörten Insulinsekretion, kann bereits in der prädiabetischen Phase eine Rolle spielen (Keskinen et al., 2002).

Für das biologisch aktive Calcitriol zeigten sich positive Korrelationen mit den Nüchtern-Parametern Glukose und C-Peptid, der Vitamin D-Status (25(OH)D) aber hatte keinen Einfluss auf stimulierte Insulinsekretion und Insulinresistenz. Die vorliegende Arbeit ist die erste, die den direkten Zusammenhang von Calcitriol-Status im Blut (ohne Supplementation) und β -Zellfunktion in gesunden normalgewichtigen Kindern, die eine normale Glukosetoleranz aufweisen, untersucht. Calcitriol, das besonders stark in die Regulation der pankreatischen β -Zellen involviert ist (Gysemans et al., 2011) wirkt u.a. durch die direkte Aktivierung der Transkription des Insulinrezeptorgens und erhöht den insulin-vermittelten Glukosetransport *in vitro* (Calle et al., 2008). In Tierstudien wurde für Calcitriol bereits nachgewiesen, dass es Hyperglykämie und Hyperinsulinämie im Mausmodell mit experimentell erzeugtem Übergewicht verbessert (Kawashima und Castro, 1981). Die Supplementation mit Calcitriol in den wenigen Humanstudien erzielte bisher jedoch kontroverse Ergebnisse. Eine Studie mit Patienten, die an Nierenerkrankungen litten und erniedrigte Konzentrationen an Vitamin D aufwiesen, bekamen 0,5 μ g Calcitriol täglich über den Zeitraum von 3 Wochen. Bei den Teilnehmern konnte eine gesteigerte Glukose-induzierte Insulinsekretion festgestellt werden (Allegra et al., 1994). Im Gegensatz dazu erzielten Suppletionsstudien bei Typ-2-Diabetespatienten (Orwoll et al., 1994) oder Männern mit einer gestörten Glukosetoleranz (Ljunghall et al., 1987) keine Verbesserung der Glukosehomöostase und Insulinsekretion.

Im Hinblick auf 25(OH)D gibt es zahlreiche Studien, die sowohl den Einfluss von Vitamin D-Status, als auch den Effekt einer Supplementation mit Vitamin D₃ auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz untersucht haben. Ein Vorteil der in dieser Arbeit durchgeführten Glukosebelastungstests war es, die Insulinsekretion direkt zu bestimmen. Andere Studien, bei denen keine Glukosetoleranztests durchgeführt wurden, nutzen oft nur indirekte Messverfahren, wie die Bestimmung von Nüchtern-Glukose, -Insulin und HOMA- β (Chonchol und Scragg, 2007, Hyppönen et al., 2008). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen keinen Einfluss des Vitamin D-Status auf HOMA-IR und Parameter der stimulierten Insulinsekretion (AUC C-Peptid, ISI, FPIR). Damit bestätigen diese Resultate nicht die

Vorbefunde aus anderen Querschnittsstudien mit einem ähnlichen Studiendesign. So fanden Chiu et al. (2004) in ihrer Untersuchung mit 126 gesunden erwachsenen Probanden eine positive Korrelation von 25(OH)D mit der Insulinsensitivität und der FPIR nach einem hyperglykämischen Clamp-Test. Die Probanden hatten alle eine normale Glukosetoleranz und waren nicht übergewichtig. Allerdings waren nur 42 % (n=54) der Probanden kaukasischer Abstammung und genau diese Gruppe wies auch die höchsten 25(OH)D-Konzentrationen (Mittelwert: 27,8 ng/ml) auf. Die anderen ethnischen Gruppen (Asiaten, Afro-Amerikaner, Mexikaner) waren im Durchschnitt eher unzureichend versorgt (Mittelwerte: 18,8 ng/ml bis 20,1 ng/ml), sodass insgesamt in dieser Population tendenziell eine Unterversorgung an Vitamin D herrschte. Im Gegensatz dazu waren die Kinder der Typ-1-Diabetes-Risikokohorte im Durchschnitt gut mit Vitamin D versorgt (29,4 ng/ml). Eine weitere Studie zeigte signifikante Assoziationen des Vitamin D-Status mit ISI und HOMA-IR in 712 Teilnehmern mit einem erhöhten Typ-2-Diabetesrisiko (Kayaniyil et al., 2010). Die Probanden waren übergewichtig (BMI>30) und durchschnittlich auch von einer Hypovitaminose (Mittelwert: 22,6 ng/ml) betroffen. Die Daten lassen die Vermutung zu, dass β -Zellfunktion und Insulinresistenz nur dann vom 25(OH)D-Status beeinflusst werden, wenn pathologische Veränderungen vorliegen (z.B. Hypovitaminose, gestörte Glukosetoleranz, Übergewicht). Dafür sprechen auch Ergebnisse einer Metaanalyse, die 15 Supplementationsstudien vereint, um den Einfluss einer Vitamin D-Supplementation auf Blutglukose, Insulinresistenz und Progression zu Typ-2-Diabetes zu untersuchen. George et al. (2012) zeigten, dass sowohl Nüchtern-Glukose ($p=0,01$), als auch Insulinresistenz ($p=0,03$) durch eine Vitamin D-Supplementation signifikant gesenkt werden konnte. Dieser Effekt zeigte sich aber nur bei Probanden mit gestörter Glukosetoleranz. In der Gruppe mit normaler Glukosetoleranz hatte die Vitamin D-Supplementation keinen Einfluss auf Nüchtern-Glukose und Insulinresistenz (George et al., 2012).

Zusammenfassend betrachtet, hatte der Vitamin D-Status (25(OH)D) bei gesunden Kindern einer Typ-1-Diabetes-Risikopopulation keinen Einfluss auf β -Zellfunktion und Insulinresistenz. Präventionsstudien sollten sich daher gezielt an Individuen richten, bei denen bereits eine gestörte Glukosetoleranz und/oder eine Hypovitaminose vorliegt.

Hinsichtlich der Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem VDR Polymorphismus *FokI* (*rs2228570*) und der Insulinsekretion. Pro Minor-Allel waren sowohl das Nüchtern-C-Peptid als auch die stimulierte Sekretion (AUC C-Peptid) nach ivGTT erniedrigt. Dieser Befund war unabhängig vom Vitamin D-Status und stand somit im Einklang mit dem Ergebnis, dass 25(OH)D-

Konzentrationen allein weder C-Peptid noch die AUC C-Peptid nach ivGTT beeinflussten (s. Punkt 4.5.1). Dies lässt die Vermutung zu, dass der *VDR* Polymorphismus seinen Effekt nicht über die 25(OH)D-Spiegel im Blut ausübt. Der *VDR* gilt als Schlüsselstelle für den Einfluss von Vitamin D auf pankreatische β -Zellfunktion, basierend auf dem Vorhandensein des *VDRs* in β -Zellen (Johnson et al., 1994). Der *FokI* Polymorphismus wurde bereits in einer Metaanalyse mit einem erhöhten Risiko für Typ-2-Diabetes in Verbindung gebracht und in einer Querschnittsstudie waren die Probanden mit einem homozygoten Phänotyp bezogen auf das Minor-Allel insulinresistenter im Vergleich zu Teilnehmern mit einer heterozygoten Ausprägung des SNPs (Wang et al., 2012, Schuch et al., 2013).

Ein potentieller Wirkmechanismus des *VDR* Polymorphismus besteht eventuell via Calcitriol. Das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bindet an den *VDR* um seine biologische Wirkung zu entfalten (Alvarez und Ashraf, 2010). In der Typ-1-Diabetes-Risikokohorte hatte die Gruppe mit den höchsten Konzentrationen an Calcitriol auch erhöhte Nüchtern-C-Peptid Werte ($p=0,003$) und eine tendenziell gesteigerte AUC C-Peptid nach ivGTT ($p=0,09$) (s. Tab. 9). Genau diese zwei Parameter waren auch mit dem *FokI* Polymorphismus assoziiert. Liegt also das Minor-Allel homozygot vor, könnte der *VDR* so verändert sein, dass Calcitriol schlechter binden kann, was somit zu erniedrigter Insulinsekretion (repräsentiert durch das Abspaltprodukt C-Peptid) führen könnte. Weiterführende Analysen in einem *VDR*-knockout Mausmodell wären nötig, um diese Hypothese zu überprüfen.

5.2.3 Typ-1-Diabetespatienten

Typ-1-Diabetes ist charakterisiert durch den fortschreitenden Verlust von β -Zellfunktion und β -Zellmasse (Atkinson und Eisenbarth, 2001). Dadurch kommt dem Erhalt von endogener β -Zellrestfunktion bei neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten eine enorm große Bedeutung zu.

Das basale C-Peptid-Level, welches als stärkster Prädiktor für den Abfall von β -Zellfunktion sowohl bei Kindern (Palmer et al., 2004), als auch Jugendlichen (Törn et al., 2000) gilt, betrug bei den 244 untersuchten Typ-1-Diabetespatienten im Mittel 0,70 ng/ml. Dieses Ergebnis deutet auf eine bestehende β -Zellrestfunktion der diabetischen Kinder hin, da zwischen Manifestation und Messung durchschnittlich nur 0,2 Monate vergingen. In der groß angelegten SEARCH Studie wurden 948 Patienten mit einem autoimmunen Diabetes prospektiv ab Manifestation untersucht und es wurde festgestellt, dass die β -Zellfunktion pro Monat um ca. 4 % zurückgeht (Dabelea et al., 2012).

Sowohl Nüchtern-C-Peptid als auch der Insulinsensitivitäts-Score waren abhängig vom Gewicht und Alter der Kinder. Diese Ergebnisse bestätigen Befunde der SEARCH und DPT-1 Studie, wo ebenfalls Alter und BMI positiv mit dem C-Peptid-Level bei Typ-1-Diabetespatienten korrelierten (Dabelea et al., 2012, Sosenko et al., 2006). Da weitere Arbeitsgruppen ebenfalls den Alterseffekt auf C-Peptid-Konzentrationen im Blut beobachteten (Karjalainen et al., 1989, Bonfanti et al., 1998), könnte dies die Hypothese bestätigen, dass in jüngeren Kindern der Erkrankungsverlauf aggressiver abläuft, einhergehend mit einer physiologisch geringeren β -Zellmasse.

Ein Großteil (56,1 %) der untersuchten Kinder war insulinresistent, mit einem Insulinsensitivitäts-Score $\geq 8,15$. Zu diesem Ergebnis kamen auch The et al. (2013), die über 1000 Kinder und Jugendliche der SEARCH Studie untersuchten und dort ebenfalls den Insulinsensitivitäts-Score nach Dabelea et al. (2011) anwendeten. Der Prozentsatz der Kinder mit einem Score $\geq 8,15$ lag in der Analyse von The et al. (2013) noch sogar höher (74,1 %).

In der vorliegenden Arbeit waren Kinder mit einem Score $< 8,15$ und somit als insulinresistent einzustufen, tendenziell älter, hatten einen höheren BMI-SDS und geringere Vitamin D-Konzentrationen im Plasma. Der Vitamin D-Spiegel übte einen signifikanten Einfluss auf die Insulinsensitivität aus, auch nach Korrektur für potentielle Störfaktoren. Damit bestätigen diese Ergebnisse die Analyse in der SEARCH Studie. The et al. (2013) zeigten, dass ein vergleichbar großer Anteil der Kinder mit Typ-1-Diabetes (49 %) 25(OH)D-Konzentrationen < 20 ng/ml aufwies und diese Gruppe signifikant häufiger von Insulinresistenz betroffen war ($p < 0,001$). Der Einfluss von 25(OH)D auf die C-Peptid-Level wurde in der Studie von The et al. (2013) nicht untersucht.

Der gefundene Zusammenhang zwischen Vitamin D und Insulinresistenz könnte durch Übergewicht erklärt werden. Es gibt inzwischen einige Arbeiten, die die Hypothese eines „Doppeldiabetes“ aufstellen, in dem immer mehr Patienten mit einem autoimmunen Diabetes auch an Übergewicht und Adipositas leiden (Wilkin, 2001, Libman und Becker, 2003, Furlanos et al., 2004). Übergewicht, als ein klassischer Risikofaktor für Insulinresistenz und möglicherweise auch für einen Vitamin D-Mangel (Snijder et al., 2005) könnte den Effekt erklären. Allerdings waren nur 18 % der untersuchten Typ-1-Diabetespatienten übergewichtig, somit spielt eine vom Übergewicht verursachte Insulinresistenz wahrscheinlich nur eine untergeordnete Rolle.

Die Anwendung eines errechneten Scores zur Bestimmung der Insulinsensitivität hat jedoch auch Grenzen, da die Messung nur indirekt über die Einbeziehung von Hüftumfang, HbA1c und Triglyceriden (s. Punkt 3.4) erfolgt. Für die direkte Bestimmung der β -Zellfunktion und

Insulinsekretionsleistung wäre die Durchführung eines Belastungstests (z.B. *Mixed Meal Tolerance Test*) notwendig. Dies konnte jedoch, bedingt durch das Studiendesign der DiMelli Studie, nicht durchgeführt werden.

Betrachtet man den Einfluss von Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs auf Nüchtern-C-Peptid und Insulinsensitivität, so zeigten sich bei den Kindern mit Typ-1-Diabetes keine signifikanten Zusammenhänge. Auf Grund des direkten Einflusses des SNPs *rs4945008* im Gen *DHCR7* auf die 25(OH)D-Konzentrationen im Blut, hätte man ebenfalls eine Assoziation dieses Polymorphismus mit der Insulinsensitivität erwarten können, da diese durch erhöhte 25(OH)D-Konzentrationen positiv beeinflusst wurde. Weiterhin bestätigte sich der Befund aus der Risikokohorte, dass der *VDR* Polymorphismus *FokI* Effekte auf C-Peptid ausübt, bei den Typ-1-Diabetespatienten nicht. Möglicherweise waren die Fallzahlen, um statistisch gesicherte Zusammenhänge nachzuweisen, zu gering.

Zusammenfassend betrachtet waren bei Typ-1-Diabetespatienten höhere Vitamin D-Konzentrationen im Blut mit einer höheren Insulinsensitivität assoziiert, jedoch ohne Einfluss von Genen des Vitamin D-Metabolismus. Ausgehend von bis dato publizierten Studien, ist die Analyse in der vorliegenden Arbeit die erste, die den Einfluss von Vitamin D auf die β -Zellrestfunktion bei Typ-1-Diabetespatienten auch im Kontext der Vitamin D-Metabolismus-assoziierten Gene untersucht hat. Es sind Folgestudien mit höheren Fallzahlen notwendig, um die Ergebnisse zu untermauern.

5.3 Entwicklung von Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter bei Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko

Der Anstieg der Insulinresistenz in der Kindheit und Jugend wurde bereits mehrfach beschrieben, hauptsächlich als ein Effekt der Pubertät (Amiel et al., 1986, Cook et al., 1993, Moran et al., 1999, Jeffery et al., 2012). Bislang war es aber unklar, in welchem Alter der Anstieg beginnt. Die Ergebnisse der vorliegenden Querschnittsanalyse von 1177 Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko zeigten einen kontinuierlichen Anstieg der Insulinresistenz vom 5. bis zum 13. Lebensjahr bei den Mädchen und vom 5. bis zum 14. Lebensjahr bei den Jungen, unabhängig vom Pubertätseintritt und Antikörperstatus. Nach dem Insulinresistenzpeak fiel der HOMA-IR in beiden Geschlechtern wieder ab. Mädchen hatten tendenziell immer etwas höhere HOMA-IR Werte als Jungen. Diese Ergebnisse stützen eine kürzlich veröffentlichte Arbeit von Jeffery et al. (2012). Die Arbeitsgruppe fand ebenfalls

einen Anstieg der Insulinresistenz weit vor dem Pubertätsbeginn. Der Anstieg konnte teilweise durch Fettmasse, Wachstumshormone (IGF-1) und Alter der Probanden erklärt werden, jedoch blieb ca. 50 % der Varianz ungeklärt (Jeffery et al., 2012). Die generell immer etwas höheren HOMA-IR Werte der Mädchen könnten durch ihre physiologisch höhere Fettmasse bedingt sein. Die „Doppeldiabetes“-Hypothese könnte ebenfalls eine Rolle spielen. Immer öfter erkranken auch Kinder und Jugendliche an Typ-2-Diabetes und der Großteil davon sind Mädchen (Ehtisham und Barrett, 2004)

Zum Zeitpunkt des Insulinresistenzpeaks waren fast alle Kinder bereits in der Pubertät. Es wird vermutet, dass physiologische Veränderungen in diesem Zeitraum, wie z.B. steigende Fettmasse, erhöhte Konzentrationen von Wachstums- und Sexualhormonen für die hohe Insulinresistenz verantwortlich sind (Travers et al., 1995, Cook et al., 1993, Roemmich et al., 2002). Warum aber bereits Jahre vor der Pubertät die Insulinresistenz ansteigt, bleibt ungeklärt. Mögliche Erklärungen beinhalten die kontinuierliche Zunahme der Fettmasse und von Wachstumshormonen in etwa dem gleichen Alter. So zeigten Jeffery et al. (2012), dass parallel zum HOMA-IR auch IGF-1 und Leptin (als Marker für Fettmasse) kontinuierlich stiegen.

Hinsichtlich Pubertätsbeginn unterschieden sich Jungen und Mädchen in der vorliegenden Analyse nicht. Beide Geschlechter berichteten Tanner Stadium 2 (Pubertätsbeginn) durchschnittlich im Alter von 11,2 Jahren. Damit entspricht dieses Ergebnis nicht der Erwartung, dass Mädchen auf Grund früherer hormoneller Aktivierung früher als Jungen in die Pubertät kommen (Boyar, 1978). Eine mögliche Erklärung liegt in der Erhebungsmethode der Pubertätsstadien. Die Zeichnungen beziehen sich lediglich auf Schambehaarung und Größe der Brust bzw. der männlichen Geschlechtsorgane. Auf eine palpatorische Untersuchung des Hodenvolumens wurde mit Augenmerk auf die Compliance der Teilnehmer verzichtet. Dadurch könnte eine Überbewertung der männlichen Pubertätsstadien stattgefunden haben. Weiterhin wurden die Tannerstadien erst ab dem 8. Lebensjahr erhoben und es kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden, dass einige Kinder bereits vor diesem Alter in die Pubertät kamen. Eine Arbeit, die eine andere Methode verwendete, um den Pubertätsanstieg zu bestimmen, zeigte jedoch ähnliche Ergebnisse. Die Gruppe um Jeffery et al. (2012) bestimmte dazu die Konzentration des luteinisierenden Hormons (LH) im Verlauf. Der plötzliche Anstieg des Sexualhormons repräsentiert den „endokrinen Pubertätsbeginn“. Dieser Anstieg erfolgte in Mädchen und Jungen fast zeitgleich (zwischen 9. und 10. Lebensjahr), verlief bei den Mädchen schneller und es wurden insgesamt höhere Werte gemessen (Jeffery et al., 2012). Die Autoren vermuteten, dass die hormonellen

Veränderungen zwischen Jungen und Mädchen nicht zeitversetzt erfolgen, lediglich das Tempo der Veränderungen sei unterschiedlich und somit bei Mädchen früher wahrnehmbar. Jeffery et al. (2012) wiesen aber auch darauf hin, dass LH als Marker für den Eintritt in die Pubertät eine relative neue Methode ist und noch nicht überall akzeptiert wird.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Insulinresistenz bereits vor Jahre vor dem Pubertätsbeginn kontinuierlich anstieg und sich der Verlauf, sowie das Alter bei Pubertätsbeginn nicht zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern unterschieden.

6. Zusammenfassung

Typ-1-Diabetes ist eine der häufigsten chronischen Autoimmunerkrankungen im Kindes- und Jugendalter. Die Erkrankung verläuft ähnlich wie andere chronische Erkrankungen, in unterschiedlichen Krankheitsstadien und der eigentlichen Krankheitsmanifestation geht eine Phase der Inselautoimmunität voraus, die geprägt ist durch das Vorhandensein spezifischer Inselautoantikörper gegen bestimmte β -Zellantigene der Langerhans-Inseln im Pankreas – der sogenannte Prädiabetes. Neben einer familiären und genetischen Prädisposition, werden verschiedene umweltbedingte Einflüsse mit der Pathogenese des Typ-1-Diabetes in Verbindung gebracht. Die vorliegende Arbeit stellt zwei dieser Faktoren in den Mittelpunkt: Vitamin D und Insulinresistenz. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle dieser Faktoren in der Phase des Prädiabetes zu charakterisieren und deren Einfluss auf die Erkrankungsprogression zu untersuchen. Die Fragestellungen wurden anhand von Patienten mit neu manifestiertem Typ-1-Diabetes (bayrisches Diabetesregister DiMelli) und einer Typ-1-Diabetes-Risikopopulation, bestehend aus den Geburtskohorten BABYDIAB und BABYDIÄT, sowie der Teenagerkohorte TEENDIAB untersucht. Während die Studien BABYDIAB, BABYDIÄT und DiMelli bereits etabliert waren und die eingelagerten Bioproben für die Dissertation zur Verfügung standen, wurde das TEENDIAB Kollektiv im Rahmen dieser Dissertation aufgebaut.

1. Unterscheiden sich die Prävalenz eines Vitamin D-Mangels, sowie der Vitamin D-Status bei prädiabetischen Kindern im Vergleich zu neu manifestierten Typ-1-Diabetespatienten und gesunden Inselautoantikörper-negativen Kindern?

Um den Vitamin D-Status im Prädiabetes zu analysieren wurden die Plasmagehalte an 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D), der biologisch inaktiven Form des Vitamin D, von insgesamt 514 Kinder (108 Kinder mit multiplen Inselautoantikörpern, 406 Kinder ohne Anzeichen von Inselautoimmunität) der Typ-1-Diabetes-Risikopopulation und von 244 Kindern mit neu manifestiertem Typ-1-Diabetes bestimmt. Die 25(OH)D-Konzentrationen im Plasma unterlagen großen jahreszeitlichen Schwankungen, mit den höchsten Werten im Sommer und den niedrigsten im Winter, und waren negativ mit dem Alter korreliert.

Die höchste Prävalenz für einen Vitamin D-Mangel (<20 ng/ml) wiesen die Typ-1-Diabetespatienten auf. Die mittlere Konzentration an 25(OH)D lag bei 19,9 ng/ml und die Hälfte (51 %) aller Kinder wiesen einen Vitamin D-Mangel auf. Inselautoantikörper-positive Kinder unterschieden sich von Inselautoantikörper-negativen Kindern hinsichtlich der

25(OH)D-Spiegel ($24,0 \text{ ng/ml} \pm 1,2 \text{ ng/ml}$ vs. $28,8 \text{ ng/ml} \pm 0,6 \text{ ng/ml}$, $p=3,40 \times 10^{-4}$) und der Häufigkeit eines Vitamin D-Mangelzustands ($39,8 \%$ vs. $28,3 \%$, $p=0,021$). Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass der häufig beobachtete Vitamin D-Mangel bei Typ-1-Diabetespatienten sich möglicherweise bereits im Vorfeld (Stadium der Inselautoimmunität) der Erkrankung manifestiert und somit keine Folge der Stoffwechsellentgleisungen im Rahmen einer Typ-1-Diabetesmanifestation wäre.

2. Beeinflussen Vitamin D-Mangel und Vitamin D-Konzentrationen im Plasma die Entstehung des Typ-1-Diabetes bei Kindern mit multiplen positiven Inselautoantikörpern?

Von 108 Kindern mit multiplen (≥ 2) Inselautoantikörpern entwickelten 53 im Laufe der Nachuntersuchungen einen manifesten Typ-1-Diabetes. Das kumulative Risiko für die Entwicklung von Typ-1-Diabetes nach 10 Jahren war gleich zwischen Kindern mit einem Vitamin D-Mangel und optimalem Versorgungszustand ($>30 \text{ ng/ml}$) ($51,8 \%$ [95 % KI: 29,3-74,3] vs. $55,4 \%$ [95 % KI: 35,5-72,3], $p=0,8$). Der Vitamin D-Status 12 bis 24 Monate nach Serokonversion (erstmaliges Auftreten von Inselautoantikörpern) hatte somit keinen Einfluss auf die Erkrankungsprogression bei Kindern mit multiplen Inselautoantikörpern.

3. Gibt es einen Zusammenhang zwischen Vitamin D-Status, sowie ausgewählten Vitamin D-Metabolismus-assoziierten SNPs und β -Zellfunktion und Insulinresistenz?

In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals der Zusammenhang zwischen dem Vitamin D-Spiegel im Blut und Parametern der β -Zellfunktion und Insulinresistenz in Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko untersucht.

Die 334 Probanden der Risikokohorte waren normgewichtig und wiesen eine normale Glukosetoleranz und Insulinsekretion nach Glukosebelastungstests auf. Die Ergebnisse zeigten, dass der Vitamin D-Status (25(OH)D) keinen Einfluss auf Nüchtern-Werte, sowie auf stimulierte Insulinsekretion und Insulinresistenz hatte. Der *VDR* Polymorphismus *FokI* übte einen signifikanten Einfluss auf die Insulinsekretion aus, dies war jedoch unabhängig vom Vitamin D-Gehalt im Blut, was somit nicht auf einen kausalen Zusammenhang zwischen Gen, Vitamin D-Gehalt im Blut und Insulinsekretion schließen lässt.

In der Kohorte der Typ-1-Diabetespatienten war ein Vitamin D-Mangel eng mit höherer Insulinresistenz verbunden ($p=0,007$). Die Nüchtern-C-Peptid-Level blieben jedoch vom Vitamin D-Spiegel unbeeinflusst.

4. *Wie entwickelt sich die Insulinresistenz von Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko im Kindes- und Jugendalter und gibt es Unterschiede zwischen Inselautoantikörper-negativen und -positiven Kindern? Welchen Einfluss hat der Pubertätsbeginn auf die Entwicklung der Insulinresistenz im Kindes- und Jugendalter?*

Die Pubertät gilt hinsichtlich der Entstehung von Inselautoimmunität und Typ-1-Diabetes als besonders sensible Phase mit hohen Inzidenzraten und ist gleichzeitig der Zeitraum mit den höchsten physiologischen Insulinresistenzwerten. Die Ergebnisse der Querschnittsanalyse von 1177 Kindern mit einem erhöhten Typ-1-Diabetesrisiko zeigten einen kontinuierlichen Anstieg der Insulinresistenz (HOMA-IR) vom 5. bis zum 13. Lebensjahr bei den Mädchen und vom 5. bis zum 14. Lebensjahr bei den Jungen, unabhängig vom Pubertätseintritt und Antikörperstatus. Mädchen hatten tendenziell immer etwas höhere HOMA-IR Werte als Jungen. Ein Anstieg der Insulinresistenz konnte bereits Jahre vor Pubertätsbeginn nachgewiesen werden und unterschied sich nicht zwischen Inselautoantikörper-positiven und -negativen Kindern.

Besonders in der Phase des Prädiabetes war der Einfluss von Vitamin D und Insulinresistenz bisher nur unzureichend charakterisiert. Durch das Vorhandensein eines Vitamin D-Mangels bereits vor Erkrankungsmanifestation, müssen ggfs. Supplementationsempfehlungen überdacht werden und Kinder mit positiven Inselautoantikörpern in die „Risikogruppe für Vitamin D-Mangel“ mit aufgenommen werden. Um einen direkten Effekt von Vitamin D auf β -Zellfunktion, Insulinresistenz und Erkrankungsrisiko nachzuweisen, bedarf es allerdings Interventionsstudien, die sich gezielt an Inselautoantikörper-positive Probanden richten.

Im Widerspruch zu der Annahme, dass Insulinresistenz ein Risikofaktor für Inselautoimmunität ist, konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die physiologisch bedingte Insulinresistenz während der Pubertät, unabhängig vom Inselautoantikörperstatus war.

7. Literatur

- Abbas, A.K., Murphy, K.M. & Sher, A.** (1996) Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 383(6603): 787-793.
- Achenbach, P., Bonifacio, E., Koczwara, K. & Ziegler, A.G.** (2005) Natural history of type 1 diabetes. *Diabetes*, 54(Suppl 2): S25-S31.
- Achenbach, P., Hummel, M., Thümer, L., Börschmann, H., Höfelmann, D. & Ziegler, A.G.** (2013) Characteristics of rapid vs slow progression to type 1 diabetes in multiple islet autoantibody-positive children. *Diabetologia*, 56(7): 1615-1622.
- Achenbach, P., Krause, S. & Ziegler, A.-G.** (2010) Pathogenese des Diabetes mellitus Typ 1 - Update 2010. *Diabetologie*, 5: R29-R46.
- Achenbach, P., Lampasona, V., Landherr, U., Koczwara, K., Krause, S., Grallert, H., Winkler, C., Pfluger, M., Illig, T., Bonifacio, E., et al.** (2009) Autoantibodies to zinc transporter 8 and SLC30A8 genotype stratify type 1 diabetes risk. *Diabetologia*, 52(9): 1881-1888.
- Ahn, J., Yu, K., Stolzenberg-Solomon, R., Simon, K.C., McCullough, M.L., Gallicchio, L., Jacobs, E.J., Ascherio, A., Helzlsouer, K., Jacobs, K.B., et al.** (2010) Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet*, 19(13): 2739-2745.
- Allegra, V., Luisetto, G., Mengozzi, G., Martimbianco, L. & Vasile, A.** (1994) Glucose-induced insulin secretion in uremia: role of 1 alpha,25(OH)₂-vitamin D₃. *Nephron*, 68(1): 41-47.
- Alvarez, J.A. & Ashraf, A.** (2010) Role of vitamin d in insulin secretion and insulin sensitivity for glucose homeostasis. *Int J Endocrinol*, 2010: 18p.
- Amiel, S.A., Sherwin, R.S., Simonson, D.C., Lauritano, A.A. & Tamborlane, W.V.** (1986) Impaired insulin action in puberty. A contributing factor to poor glycemic control in adolescents with diabetes. *N Engl J Med*, 315(4): 215-219.
- Amrani, A., Durant, S., Throsby, M., Coulaud, J., Dardenne, M. & Homo-Delarche, F.** (1998) Glucose homeostasis in the nonobese diabetic mouse at the prediabetic stage. *Endocrinology*, 139(3): 1115-1124.
- Atkinson, M.A. & Eisenbarth, G.S.** (2001) Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*, 358(9277): 221-229.
- Bach, J.-F. & Chatenoud, L.** (2012) The Hygiene Hypothesis: An Explanation for the Increased Frequency of Insulin-Dependent Diabetes. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2(2): doi: 10.1101/cshperspect.a007799.

- Bach, J.F.** (1994) Insulin-dependent diabetes mellitus as an autoimmune disease. *Endocr Rev*, 15(4): 516-542.
- Baeke, F., Takiishi, T., Korf, H., Gysemans, C. & Mathieu, C.** (2010) Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*, 10(4): 482-496.
- Bailey, R., Cooper, J.D., Zeitels, L., Smyth, D.J., Yang, J.H., Walker, N.M., Hypponen, E., Dunger, D.B., Ramos-Lopez, E., Badenhoop, K., et al.** (2007) Association of the vitamin D metabolism gene CYP27B1 with type 1 diabetes. *Diabetes*, 56(10): 2616-2621.
- Baumgartl, H.J., Standl, E., Schmidt-Gayk, H., Kolb, H.J., Janka, H.U. & Ziegler, A.G.** (1991) Changes of vitamin D3 serum concentrations at the onset of immune-mediated type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetes Res*, 16(3): 145-148.
- Baynes, K.C., Boucher, B.J., Feskens, E.J. & Kromhout, D.** (1997) Vitamin D, glucose tolerance and insulinaemia in elderly men. *Diabetologia*, 40(3): 344-347.
- Beales, P.E. & Pozzilli, P.** (2002) Thiazolidinediones for the prevention of diabetes in the non-obese diabetic (NOD) mouse: implications for human type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*, 18(2): 114-117.
- Behall, K.M., Scholfield, D.J., Hallfrisch, J.G., Kelsay, J.L. & Reiser, S.** (1984) Seasonal variation in plasma glucose and hormone levels in adult men and women. *Am J Clin Nutr*, 40(6 Suppl): 1352-1356.
- Beyerlein, A., Wehweck, F., Ziegler, A. & Pflüger, M.** (2013) Respiratory infections in early life and the development of islet autoimmunity in children at increased type 1 diabetes risk: Evidence from the babydiet study. *JAMA Pediatrics*, 167(9): 800-807.
- Bikle, D.D., Halloran, B.P. & Riviere, J.E.** (1994) Production of 1,25 dihydroxyvitamin D3 by perfused pig skin. *J Invest Dermatol*, 102(5): 796-798.
- Bikle, D.D., Nemanic, M.K., Gee, E. & Elias, P.** (1986) 1,25-Dihydroxyvitamin D3 production by human keratinocytes. Kinetics and regulation. *J Clin Invest*, 78(2): 557-566.
- Bingley, P.J., Mahon, J.L. & Gale, E.A.** (2008) Insulin resistance and progression to type 1 diabetes in the European Nicotinamide Diabetes Intervention Trial (ENDIT). *Diabetes Care*, 31(1): 146-150.
- Bizzarri, C., Pitocco, D., Napoli, N., Di Stasio, E., Maggi, D., Manfrini, S., Suraci, C., Cavallo, M.G., Cappa, M., Ghirlanda, G., et al.** (2010) No protective effect of calcitriol on beta-cell function in recent-onset type 1 diabetes: the IMDIAB XIII trial. *Diabetes Care*, 33(9): 1962-1963.

- Bland, R., Markovic, D., Hills, C.E., Hughes, S.V., Chan, S.L., Squires, P.E. & Hewison, M.** (2004) Expression of 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase in pancreatic islets. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5): 121-125.
- Böhles, H., Fusch, C., Genzel-Boroviczény, O., Jochum, F., Kauth, T., Kersting, M., Koletzko, B., Lentze, M., Moß, A., Mihatsch, W., et al.** (2011) Vitamin-D-Versorgung im Säuglings-, Kindes- und Jugendalter. *Monatsschr Kinderheilkd*, 159(8): 766-774.
- Bonfanti, R., Bazzigaluppi, E., Calori, G., Riva, M.C., Viscardi, M., Boggetti, E., Meschi, F., Bosi, E., Chiumello, G. & Bonifacio, E.** (1998) Parameters associated with residual insulin secretion during the first year of disease in children and adolescents with Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 15(10): 844-850.
- Bonifacio, E., Hummel, M., Walter, M., Schmid, S. & Ziegler, A.G.** (2004) IDDM1 and multiple family history of type 1 diabetes combine to identify neonates at high risk for type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 27(11): 2695-2700.
- Bonifacio, E., Scirpoli, M., Kredel, K., Fuchtenbusch, M. & Ziegler, A.G.** (1999) Early autoantibody responses in prediabetes are IgG1 dominated and suggest antigen-specific regulation. *J Immunol*, 163(1): 525-532.
- Borges, M.C., Martini, L.A. & Rogero, M.M.** (2011) Current perspectives on vitamin D, immune system, and chronic diseases. *Nutrition*, 27(4): 399-404.
- Boucher, B.J., Mannan, N., Noonan, K., Hales, C.N. & Evans, S.J.** (1995) Glucose intolerance and impairment of insulin secretion in relation to vitamin D deficiency in east London Asians. *Diabetologia*, 38(10): 1239-1245.
- Boyar, R.M.** (1978) Control of the onset of puberty. *Annu Rev Med*, 29: 509-520.
- Braegger, C., Campoy, C., Colomb, V., Decsi, T., Domellof, M., Fewtrell, M., Hojsak, I., Mihatsch, W., Molgaard, C., Shamir, R., et al.** (2013) Vitamin D in the healthy European paediatric population. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 56(6): 692-701.
- Brekke, H.K. & Ludvigsson, J.** (2007) Vitamin D supplementation and diabetes-related autoimmunity in the ABIS study. *Pediatr Diabetes*, 8(1): 11-14.
- Cade, C. & Norman, A.W.** (1986) Vitamin D3 improves impaired glucose tolerance and insulin secretion in the vitamin D-deficient rat in vivo. *Endocrinology*, 119(1): 84-90.
- Calle, C., Maestro, B. & Garcia-Arencibia, M.** (2008) Genomic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on insulin receptor gene expression, insulin receptor number and insulin activity in the kidney, liver and adipose tissue of streptozotocin-induced diabetic rats. *BMC Mol Biol*, 9(65): doi:10.1186/1471-2199-9-65.

- Cardwell, C.R., Stene, L.C., Ludvigsson, J., Rosenbauer, J., Cinek, O., Svensson, J., Perez-Bravo, F., Memon, A., Gimeno, S.G., Wadsworth, E.J.K., et al.** (2012) Breast-Feeding and Childhood-Onset Type 1 Diabetes: A pooled analysis of individual participant data from 43 observational studies. *Diabetes Care*, 35(11): 2215-2225.
- Castano, L. & Eisenbarth, G.S.** (1990) Type-I diabetes: a chronic autoimmune disease of human, mouse, and rat. *Annu Rev Immunol*, 8: 647-679.
- Cheng, J.B., Levine, M.A., Bell, N.H., Mangelsdorf, D.J. & Russell, D.W.** (2004) Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101(20): 7711-7715.
- Cheng, J.B., Motola, D.L., Mangelsdorf, D.J. & Russell, D.W.** (2003) De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J Biol Chem*, 278(39): 38084-38093.
- Chiu, K.C., Chu, A., Go, V.L. & Saad, M.F.** (2004) Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. *Am J Clin Nutr*, 79(5): 820-825.
- Chonchol, M. & Scragg, R.** (2007) 25-Hydroxyvitamin D, insulin resistance, and kidney function in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Kidney Int*, 71(2): 134-139.
- Clark, S.A., Stumpf, W.E. & Sar, M.** (1981) Effect of 1,25 dihydroxyvitamin D₃ on insulin secretion. *Diabetes*, 30(5): 382-386.
- Clark, S.A., Stumpf, W.E., Sar, M., DeLuca, H.F. & Tanaka, Y.** (1980) Target cells for 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in the pancreas. *Cell Tissue Res*, 209(3): 515-520.
- Colman, P.G., Steele, C., Couper, J.J., Beresford, S.J., Powell, T., Kewming, K., Pollard, A., Gellert, S., Tait, B., Honeyman, M., et al.** (2000) Islet autoimmunity in infants with a Type I diabetic relative is common but is frequently restricted to one autoantibody. *Diabetologia*, 43(2): 203-209.
- Cook, J.S., Hoffman, R.P., Stene, M.A. & Hansen, J.R.** (1993) Effects of maturational stage on insulin sensitivity during puberty. *J Clin Endocrinol Metab*, 77(3): 725-730.
- Cooper, J.D., Smyth, D.J., Walker, N.M., Stevens, H., Burren, O.S., Wallace, C., Greissl, C., Ramos-Lopez, E., Hypponen, E., Dunger, D.B., et al.** (2011) Inherited variation in vitamin D genes is associated with predisposition to autoimmune disease type 1 diabetes. *Diabetes*, 60(5): 1624-1631.
- D'Ambrosio, D., Cippitelli, M., Cocciolo, M.G., Mazzeo, D., Di Lucia, P., Lang, R., Sinigaglia, F. & Panina-Bordignon, P.** (1998) Inhibition of IL-12 production by 1,25-

- dihydroxyvitamin D3. Involvement of NF-kappaB downregulation in transcriptional repression of the p40 gene. *J Clin Invest*, 101(1): 252-262.
- D-A-CH.** 2013. *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Vitamin D.* 1. Auflage. 5. korrigierter Nachdruck. Neustadt a. d. Weinstraße: Neuer Umschau Buchverlag.
- Dabelea, D., Bell, R.A., D'Agostino, R.B., Jr., Imperatore, G., Johansen, J.M., Linder, B., Liu, L.L., Loots, B., Marcovina, S., Mayer-Davis, E.J., et al.** (2007) Incidence of diabetes in youth in the United States. *Jama*, 297(24): 2716-2724.
- Dabelea, D., D'Agostino, R.B., Jr., Mason, C.C., West, N., Hamman, R.F., Mayer-Davis, E.J., Maahs, D., Klingensmith, G., Knowler, W.C. & Nadeau, K.** (2011) Development, validation and use of an insulin sensitivity score in youths with diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth study. *Diabetologia*, 54(1): 78-86.
- Dabelea, D., Mayer-Davis, E.J., Andrews, J.S., Dolan, L.M., Pihoker, C., Hamman, R.F., Greenbaum, C., Marcovina, S., Fujimoto, W., Linder, B., et al.** (2012) Clinical evolution of beta cell function in youth with diabetes: the SEARCH for Diabetes in Youth study. *Diabetologia*, 55(12): 3359-3368.
- DeStefano, F., Mullooly, J.P., Okoro, C.A., Chen, R.T., Marcy, S.M., Ward, J.I., Vadheim, C.M., Black, S.B., Shinefield, H.R., Davis, R.L., et al.** (2001) Childhood Vaccinations, Vaccination Timing, and Risk of Type 1 Diabetes Mellitus. *Pediatrics*, 108(6): e112.
- Dusso, A.S., Brown, A.J. & Slatopolsky, E.** (2005) Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289(1): F8-28.
- Ehehalt, S., Dietz, K., Willasch, A.M. & Neu, A.** (2012) Prediction model for the incidence and prevalence of type 1 diabetes in childhood and adolescence: evidence for a cohort-dependent increase within the next two decades in Germany. *Pediatr Diabetes*, 13(1): 15-20.
- Ehtisham, S. & Barrett, T.G.** (2004) The emergence of type 2 diabetes in childhood. *Ann Clin Biochem*, 41(Pt 1): 10-16.
- Eisenbarth, G.S.** (1986) Type I diabetes mellitus. A chronic autoimmune disease. *N Engl J Med*, 314(21): 1360-1368.
- Elmadfa, I. & Leitzmann, C.** 2004. *Ernährung des Menschen.* 4. überarbeitete Auflage. Stuttgart: UTB.
- Essen, M.R.v., Kongsbak, M., Schjerling, P., Olgaard, K., Odum, N. & Geisler, C.** (2010) Vitamin D controls T cell antigen receptor signaling and activation of human T cells. *Nat Immunol*, 11(4): 344-349.

- EURODIAB-Study-Group** (1999) Vitamin D supplement in early childhood and risk for Type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. The EURODIAB Substudy 2 Study Group. *Diabetologia*, 42(1): 51-54.
- Fassbender, W.J., Goertz, B., Weismuller, K., Steinhauer, B., Stracke, H., Auch, D., Linn, T. & Bretzel, R.G.** (2002) VDR gene polymorphisms are overrepresented in German patients with type 1 diabetes compared to healthy controls without effect on biochemical parameters of bone metabolism. *Horm Metab Res*, 34(6): 330-337.
- Foulis, A.K., Liddle, C.N., Farquharson, M.A., Richmond, J.A. & Weir, R.S.** (1986) The histopathology of the pancreas in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus: a 25-year review of deaths in patients under 20 years of age in the United Kingdom. *Diabetologia*, 29(5): 267-274.
- Fourlanos, S., Narendran, P., Byrnes, G.B., Colman, P.G. & Harrison, L.C.** (2004) Insulin resistance is a risk factor for progression to type 1 diabetes. *Diabetologia*, 47(10): 1661-1667.
- Frederiksen, B., Kroehl, M., Lamb, M.M., Seifert, J., Barriga, K., Eisenbarth, G.S., Rewers, M. & Norris, J.M.** (2013a) Infant Exposures and Development of Type 1 Diabetes Mellitus: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *JAMA Pediatr*, 167(9): 808-815.
- Frederiksen, B.N., Kroehl, M., Fingerlin, T.E., Wong, R., Steck, A.K., Rewers, M. & Norris, J.M.** (2013b) Association between Vitamin D Metabolism Gene Polymorphisms and Risk of Islet Autoimmunity and Progression to Type 1 Diabetes: The Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *J Clin Endocrinol Metab*, 98(11):E1845-1851
- Füchtenbusch, M., Irnstetter, A., Jäger, G. & Ziegler, A.G.** (2001) No evidence for an association of coxsackie virus infections during pregnancy and early childhood with development of islet autoantibodies in offspring of mothers or fathers with type 1 diabetes. *J Autoimmun*, 17(4): 333-340.
- George, P.S., Pearson, E.R. & Witham, M.D.** (2012) Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabetic Medicine*, 29(8): e142-e150.
- Gepts, W.** (1965) Pathologic anatomy of the pancreas in juvenile diabetes mellitus. *Diabetes*, 14(10): 619-633.
- Gerstein, H.C.** (1994) Cow's milk exposure and type I diabetes mellitus. A critical overview of the clinical literature. *Diabetes Care*, 17(1): 13-19.

- Giulietti, A., Gysemans, C., Stoffels, K., van Etten, E., Decallonne, B., Overbergh, L., Bouillon, R. & Mathieu, C.** (2004) Vitamin D deficiency in early life accelerates Type 1 diabetes in non-obese diabetic mice. *Diabetologia*, 47(3): 451-462.
- Gorham, E.D., Garland, C.F., Burgi, A.A., Mohr, S.B., Zeng, K., Hofflich, H., Kim, J.J. & Ricordi, C.** (2012) Lower prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D concentration is associated with higher risk of insulin-requiring diabetes: a nested case-control study. *Diabetologia*, 55(12): 3224-3227.
- Graves, P.M., Rotbart, H.A., Nix, W.A., Pallansch, M.A., Erlich, H.A., Norris, J.M., Hoffman, M., Eisenbarth, G.S. & Rewers, M.** (2003) Prospective study of enteroviral infections and development of beta-cell autoimmunity. Diabetes autoimmunity study in the young (DAISY). *Diabetes Res Clin Pract*, 59(1): 51-61.
- Gysemans, C., Korf, H. & Mathieu, C.** 2011. Chapter 94 - Vitamin D and Diabetes. In: Feldman, D., Pike, J.W. & Adams, J.S. (Hrsg.). *Vitamin D*. Third Edition. San Diego: Academic Press, 1825-1842.
- Halteren, A.G.v., Etten, E.v., de Jong, E.C., Bouillon, R., Roep, B.O. & Mathieu, C.** (2002) Redirection of human autoreactive T-cells Upon interaction with dendritic cells modulated by TX527, an analog of 1,25 dihydroxyvitamin D(3). *Diabetes*, 51(7): 2119-2125.
- Harjutsalo, V., Sjoberg, L. & Tuomilehto, J.** (2008) Time trends in the incidence of type 1 diabetes in Finnish children: a cohort study. *Lancet*, 371(9626): 1777-1782.
- Haskins, K. & McDuffie, M.** (1990) Acceleration of diabetes in young NOD mice with a CD4+ islet-specific T cell clone. *Science*, 249(4975): 1433-1436.
- Heinze, E., Horn, T., Wabitsch, M., Wudy, S., Sorgo, W. & Homoki, J.** (2002) Bestimmung von Insulinresistenz und Insulinsensitivität bei Kindern und Jugendlichen. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 150(9): 1095-1100.
- Hewison, M., Freeman, L., Hughes, S.V., Evans, K.N., Bland, R., Eliopoulos, A.G., Kilby, M.D., Moss, P.A. & Chakraverty, R.** (2003) Differential regulation of vitamin D receptor and its ligand in human monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol*, 170(11): 5382-5390.
- Hintzpetter, B., Scheidt-Nave, C., Muller, M.J., Schenk, L. & Mensink, G.B.** (2008) Higher prevalence of vitamin D deficiency is associated with immigrant background among children and adolescents in Germany. *J Nutr*, 138(8): 1482-1490.
- Hirschhorn, J.N.** (2003) Genetic epidemiology of type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes*, 4(2): 87-100.

- Holick, M.F.** (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 357(3): 266-281.
- Holick, M.F., MacLaughlin, J.A., Clark, M.B., Holick, S.A., Potts, J.T., Jr., Anderson, R.R., Blank, I.H., Parrish, J.A. & Elias, P.** (1980) Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science*, 210(4466): 203-205.
- Hummel, M., Bonifacio, E., Schmid, S., Walter, M., Knopff, A. & Ziegler, A.G.** (2004) Brief communication: early appearance of islet autoantibodies predicts childhood type 1 diabetes in offspring of diabetic parents. *Ann Intern Med*, 140(11): 882-886.
- Hummel, M., Fuchtenbusch, M., Schenker, M. & Ziegler, A.G.** (2000) No major association of breast-feeding, vaccinations, and childhood viral diseases with early islet autoimmunity in the German BABYDIAB Study. *Diabetes Care*, 23(7): 969-974.
- Hummel, S., Pflüger, M., Hummel, M., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2011) Primary dietary intervention study to reduce the risk of islet autoimmunity in children at increased risk for type 1 diabetes: the BABYDIET study. *Diabetes Care*, 34(6): 1301-1305.
- Hunter, D., De Lange, M., Snieder, H., MacGregor, A.J., Swaminathan, R., Thakker, R.V. & Spector, T.D.** (2001) Genetic contribution to bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res*, 16(2): 371-378.
- Huynh, T., Greer, R.M., Nyunt, O., Bowling, F., Cowley, D., Leong, G.M., Cotterill, A.M. & Harris, M.** (2009) The association between ketoacidosis and 25(OH)-vitamin D3 levels at presentation in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatric Diabetes*, 10(1): 38-43.
- Hviid, A., Stellfeld, M., Wohlfahrt, J. & Melbye, M.** (2004) Childhood vaccination and type 1 diabetes. *N Engl J Med*, 350(14): 1398-1404.
- Hyppönen, E., Boucher, B.J., Berry, D.J. & Power, C.** (2008) 25-hydroxyvitamin D, IGF-1, and metabolic syndrome at 45 years of age: a cross-sectional study in the 1958 British Birth Cohort. *Diabetes*, 57(2): 298-305.
- Hyppönen, E., Läärä, E., Reunanen, A., Järvelin, M.-R. & Virtanen, S.M.** (2001) Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 358(9292): 1500-1503.
- Ishii, H., Suzuki, H., Baba, T., Nakamura, K. & Watanabe, T.** (2001) Seasonal variation of glycemic control in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 24(8): 1503.
- Janner, M., Ballinari, P., Mullis, P.E. & Fluck, C.E.** (2010) High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. *Swiss Med Wkly*, 140: w13091.

- Jeffery, A.N., Metcalf, B.S., Hosking, J., Streeter, A.J., Voss, L.D. & Wilkin, T.J.** (2012) Age before stage: insulin resistance rises before the onset of puberty: a 9-year longitudinal study (EarlyBird 26). *Diabetes Care*, 35(3): 536-541.
- Johnson, J.A., Grande, J.P., Roche, P.C. & Kumar, R.** (1994) Immunohistochemical localization of the 1,25(OH)₂D₃ receptor and calbindin D28k in human and rat pancreas. *Am J Physiol*, 267(3 Pt 1): E356-360.
- Jongen, M.J., Bishop, J.E., Cade, C. & Norman, A.W.** (1987) Effect of dietary calcium, phosphate and vitamin D deprivation on the pharmacokinetics of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in the rat. *Horm Metab Res*, 19(10): 481-485.
- Kahles, H., Morahan, G., Todd, J.A. & Badenhop, K.** (2009) Association analyses of the vitamin D receptor gene in 1654 families with type I diabetes. *Genes Immun*, 10: S60-63.
- Karjalainen, J., Salmela, P., Ilonen, J., Surcel, H.M. & Knip, M.** (1989) A comparison of childhood and adult type I diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 320(14): 881-886.
- Kasahara, A.K., Singh, R.J. & Noymer, A.** (2013) Vitamin D (25OHD) Serum Seasonality in the United States. *PLoS ONE*, 8(6): e65785.
- Kawashima, H. & Castro, A.** (1981) Effect of 1 alpha-hydroxyvitamin D₃ on the glucose and calcium metabolism in genetic obese mice. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 33(1): 155-161.
- Kayaniyil, S., Vieth, R., Retnakaran, R., Knight, J.A., Qi, Y., Gerstein, H.C., Perkins, B.A., Harris, S.B., Zinman, B. & Hanley, A.J.** (2010) Association of vitamin D with insulin resistance and beta-cell dysfunction in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 33(6): 1379-1381.
- Keskinen, P., Korhonen, S., Kupila, A., Veijola, R., Erkkila, S., Savolainen, H., Arvilommi, P., Simell, T., Ilonen, J., Knip, M., et al.** (2002) First-phase insulin response in young healthy children at genetic and immunological risk for Type I diabetes. *Diabetologia*, 45(12): 1639-1648.
- Khan, H., Kunutsor, S., Franco, O.H. & Chowdhury, R.** (2013) Vitamin D, type 2 diabetes and other metabolic outcomes: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Proceedings of the Nutrition Society*, 72(01): 89-97.
- Kimpimäki, T., Erkkola, M., Korhonen, S., Kupila, A., Virtanen, S.M., Ilonen, J., Simell, O. & Knip, M.** (2001) Short-term exclusive breastfeeding predisposes young children with increased genetic risk of Type I diabetes to progressive beta-cell autoimmunity. *Diabetologia*, 44(1): 63-69.

- Knip, M., Virtanen, S.M., Seppä, K., Ilonen, J., Savilahti, E., Vaarala, O., Reunanen, A., Teramo, K., Hämäläinen, A.-M., Paronen, J., et al.** (2010) Dietary Intervention in Infancy and Later Signs of Beta-Cell Autoimmunity. *New England Journal of Medicine*, 363(20): 1900-1908.
- Kriegel, M.A., Manson, J.E. & Costenbader, K.H.** (2011) Does Vitamin D Affect Risk of Developing Autoimmune Disease?: A Systematic Review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 40(6): 512-531.
- Kromeyer-Hauschild, K., Wabitsch, M., Kunze, D., Geller, F., Geiß, H.C., Hesse, V., Hippel, v.A., Jaeger, U., Johnsen, D., Korte, W., et al.** (2001) Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben. *Monatsschr Kinderheilkd*, 149(8): 807-818.
- Kühn, T., Kaaks, R., Teucher, B., Hirche, F., Dierkes, J., Weikert, C., Katzke, V., Boeing, H., Stangl, G. & Buijsse, B.** (2013) Dietary, lifestyle, and genetic determinants of vitamin D status: a cross-sectional analysis from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Germany study. *European Journal of Nutrition*, 53(3): 731-741.
- Kumar, J., Muntner, P., Kaskel, F.J., Hailpern, S.M. & Melamed, M.L.** (2009) Prevalence and associations of 25-hydroxyvitamin D deficiency in US children: NHANES 2001-2004. *Pediatrics*, 124(3): e362-370.
- Laitinen, O.H., Honkanen, H., Pakkanen, O., Oikarinen, S., Hankaniemi, M.M., Huhtala, H., Ruokoranta, T., Lecouturier, V., André, P., Harju, R., et al.** (2013) Cocksackievirus B1 Is Associated With Induction of β -Cell Autoimmunity That Portends Type 1 Diabetes. *Diabetes*, 63(2): 446-455.
- Lambert, A.P., Gillespie, K.M., Thomson, G., Cordell, H.J., Todd, J.A., Gale, E.A. & Bingley, P.J.** (2004) Absolute risk of childhood-onset type 1 diabetes defined by human leukocyte antigen class II genotype: a population-based study in the United Kingdom. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(8): 4037-4043.
- Lampasona, V., Schlosser, M., Mueller, P.W., Williams, A.J., Wenzlau, J.M., Hutton, J.C. & Achenbach, P.** (2011) Diabetes antibody standardization program: first proficiency evaluation of assays for autoantibodies to zinc transporter 8. *Clin Chem*, 57(12): 1693-1702.
- Lee, H.S., Briese, T., Winkler, C., Rewers, M., Bonifacio, E., Hyoty, H., Pflüger, M., Simell, O., She, J.X., Hagopian, W., et al.** (2013) Next-generation sequencing for viruses in children with rapid-onset type 1 diabetes. *Diabetologia*, 56(8): 1705-1711.

- Lehmann, B., Tiebel, O. & Meurer, M.** (1999) Expression of vitamin D3 25-hydroxylase (CYP27) mRNA after induction by vitamin D3 or UVB radiation in keratinocytes of human skin equivalents--a preliminary study. *Arch Dermatol Res*, 291(9): 507-510.
- Levin, G.P., Robinson-Cohen, C., de Boer, I.H., Houston, D.K., Lohman, K., Liu, Y., Kritchevsky, S.B., Cauley, J.A., Tanaka, T., Ferrucci, L., et al.** (2012) Genetic variants and associations of 25-hydroxyvitamin D concentrations with major clinical outcomes. *Jama*, 308(18): 1898-1905.
- Liblau, R.S., Singer, S.M. & McDevitt, H.O.** (1995) Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol Today*, 16(1): 34-8.
- Libman, I.M. & Becker, D.J.** (2003) Coexistence of type 1 and type 2 diabetes mellitus: "double" diabetes? *Pediatr Diabetes*, 4(2): 110-113.
- Littorin, B., Blom, P., Scholin, A., Arnqvist, H.J., Blohme, G., Bolinder, J., Ekblom-Snell, A., Eriksson, J.W., Gudbjornsdottir, S., Nystrom, L., et al.** (2006) Lower levels of plasma 25-hydroxyvitamin D among young adults at diagnosis of autoimmune type 1 diabetes compared with control subjects: results from the nationwide Diabetes Incidence Study in Sweden (DISS). *Diabetologia*, 49(12): 2847-2852.
- Livshits, G., Karasik, D. & Seibel, M.J.** (1999) Statistical genetic analysis of plasma levels of vitamin D: familial study. *Ann Hum Genet*, 63(Pt 5): 429-439.
- Ljunghall, S., Lind, L., Lithell, H., Skarfors, E., Selinus, I., Sørensen, O.H. & Wide, L.** (1987) Treatment with one-alpha-hydroxycholecalciferol in middle-aged men with impaired glucose tolerance--a prospective randomized double-blind study. *Acta Med Scand*, 222(4): 361-367.
- Lorini, R. & Vanelli, M.** (1996) Normal values of first-phase insulin response to intravenous glucose in healthy Italian children and adolescents. The Prediabetes Study Group of the Italian Society for Pediatric Endocrinology and Diabetology (SIEDP). *J Pediatr Endocrinol Metab*, 9(2): 163-167.
- Luong, K., Nguyen, L.T. & Nguyen, D.N.** (2005) The role of vitamin D in protecting type 1 diabetes mellitus. *Diabetes Metab Res Rev*, 21(4): 338-346.
- Maestro, B., Davila, N., Carranza, M.C. & Calle, C.** (2003) Identification of a Vitamin D response element in the human insulin receptor gene promoter. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 84(2-3): 223-230.
- Marjamäki, L., Niinistö, S., Kenward, M.G., Uusitalo, L., Uusitalo, U., Ovaskainen, M.L., Kronberg-Kippilä, C., Simell, O., Veijola, R., Ilonen, J., et al.** (2010) Maternal

- intake of vitamin D during pregnancy and risk of advanced beta cell autoimmunity and type 1 diabetes in offspring. *Diabetologia*, 53(8): 1599-1607.
- Mathieu, C. & Badenhoop, K.** (2005) Vitamin D and type 1 diabetes mellitus: state of the art. *Trends Endocrinol Metab*, 16(6): 261-266.
- Matsuda, M. & DeFronzo, R.A.** (1999) Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*, 22(9): 1462-1470.
- Matthews, D.R., Hosker, J.P., Rudenski, A.S., Naylor, B.A., Treacher, D.F. & Turner, R.C.** (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 28(7): 412-419.
- Maxwell, J.D.** (1994) Seasonal variation in vitamin D. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(03): 533-543.
- Mehnert, H., Standl, E., Usadel, K.H. & Häring, H.U.** 2003. *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Stuttgart: Thieme Verlag.
- Meier-Stiegen, F. & Ziegler, A.-G.** (2011) Prospektive Verlaufsbeobachtungsstudien zur Entstehung des Typ-1-Diabetes im Kindesalter und während der Pubertät. *Dtsch med Wochenschr*, 136(06): 271-275.
- Mensink, G.B., Haftenberger, M. & Thamm, M.** (2001) Validity of DISHES 98, a computerised dietary history interview: energy and macronutrient intake. *Eur J Clin Nutr*, 55(6): 409-417.
- Mensink, G.B., Heseke, H., Stahl, A., Richter, A. & Vohmann, C.** (2007) Die aktuelle Nährstoffversorgung von Kindern und Jugendlichen in Deutschland. *Ernährungs Umschau*, 54(11): 636-646.
- Mezza, T., Muscogiuri, G., Sorice, G.P., Priolella, A., Salomone, E., Pontecorvi, A. & Giaccari, A.** (2012) Vitamin D deficiency: a new risk factor for type 2 diabetes? *Ann Nutr Metab*, 61(4): 337-348.
- Moltchanova, E.V., Schreier, N., Lammi, N. & Karvonen, M.** (2009) Seasonal variation of diagnosis of Type 1 diabetes mellitus in children worldwide. *Diabetic Medicine*, 26(7): 673-678.
- Moran, A., Jacobs, D.R., Jr., Steinberger, J., Hong, C.P., Prineas, R., Luepker, R. & Sinaiko, A.R.** (1999) Insulin resistance during puberty: results from clamp studies in 357 children. *Diabetes*, 48(10): 2039-2044.

- Morris, N.M. & Udry, J.R.** (1980) Validation of a self-administered instrument to assess stage of adolescent development. *Journal of Youth and Adolescence*, 9(3): 271-280.
- Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A. & Coffman, R.L.** (1986) Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*, 136(7): 2348-2357.
- MRI** (2008) *Nationale Verzehrsstudie II. [Ergebnisbericht Teil 2]*. Karlsruhe: Max Rubner-Institut.
- Munger, K.L., Levin, L.I., Massa, J., Horst, R., Orban, T. & Ascherio, A.** (2013) Preclinical serum 25-hydroxyvitamin D levels and risk of type 1 diabetes in a cohort of US military personnel. *Am J Epidemiol*, 177(5): 411-419.
- National-Diabetes-Data-Group** (1979) Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. *Diabetes*, 28(12): 1039-1057.
- Norman, A.W.** (2008) From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr*, 88(2): 491s-499s.
- Norman, A.W., Frankel, J.B., Heldt, A.M. & Grodsky, G.M.** (1980) Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science*, 209(4458): 823-825.
- Norris, J.M., Barriga, K., Klingensmith, G., Hoffman, M., Eisenbarth, G.S., Erlich, H.A. & Rewers, M.** (2003) Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *Jama*, 290(13): 1713-1720.
- Nyomba, B.L., Bouillon, R. & De Moor, P.** (1984) Influence of vitamin D status on insulin secretion and glucose tolerance in the rabbit. *Endocrinology*, 115(1): 191-197.
- Nyomba, B.L., Verhaeghe, J., Thomasset, M., Lissens, W. & Bouillon, R.** (1989) Bone mineral homeostasis in spontaneously diabetic BB rats. I. Abnormal vitamin D metabolism and impaired active intestinal calcium absorption. *Endocrinology*, 124(2): 565-572.
- Oh, J.Y. & Barrett-Connor, E.** (2002) Association between vitamin D receptor polymorphism and type 2 diabetes or metabolic syndrome in community-dwelling older adults: the Rancho Bernardo Study. *Metabolism*, 51(3): 356-359.
- Ortlepp, J.R., Metrikat, J., Albrecht, M., von Korff, A., Hanrath, P. & Hoffmann, R.** (2003) The vitamin D receptor gene variant and physical activity predicts fasting glucose levels in healthy young men. *Diabet Med*, 20(6): 451-454.
- Orton, S.M., Morris, A.P., Herrera, B.M., Ramagopalan, S.V., Lincoln, M.R., Chao, M.J., Vieth, R., Sadovnick, A.D. & Ebers, G.C.** (2008) Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis. *Am J Clin Nutr*, 88(2): 441-447.

- Orwoll, E., Riddle, M. & Prince, M.** (1994) Effects of vitamin D on insulin and glucagon secretion in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr*, 59(5): 1083-1087.
- Palmer, J.P., Fleming, G.A., Greenbaum, C.J., Herold, K.C., Jansa, L.D., Kolb, H., Lachin, J.M., Polonsky, K.S., Pozzilli, P., Skyler, J.S., et al.** (2004) C-peptide is the appropriate outcome measure for type 1 diabetes clinical trials to preserve beta-cell function: report of an ADA workshop, 21-22 October 2001. *Diabetes*, 53(1): 250-264.
- Pani, M.A., Knapp, M., Donner, H., Braun, J., Baur, M.P., Usadel, K.H. & Badenhop, K.** (2000) Vitamin D receptor allele combinations influence genetic susceptibility to type 1 diabetes in Germans. *Diabetes*, 49(3): 504-507.
- Pani, M.A., Regulla, K., Segni, M., Krause, M., Hofmann, S., Hufner, M., Herwig, J., Pasquino, A.M., Usadel, K.H. & Badenhop, K.** (2002) Vitamin D 1alpha-hydroxylase (CYP1alpha) polymorphism in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis and type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 146(6): 777-781.
- Patterson, C.C., Gyurus, E., Rosenbauer, J., Cinek, O., Neu, A., Schober, E., Parslow, R.C., Joner, G., Svensson, J., Castell, C., et al.** (2012) Trends in childhood type 1 diabetes incidence in Europe during 1989-2008: evidence of non-uniformity over time in rates of increase. *Diabetologia*, 55(8): 2142-2147.
- Pflüger, M., Winkler, C., Hummel, S. & Ziegler, A.G.** (2010) Early infant diet in children at high risk for type 1 diabetes. *Horm Metab Res*, 42(2): 143-148.
- Pietschmann, P., Schernthaner, G. & Woloszczuk, W.** (1988) Serum osteocalcin levels in diabetes mellitus: analysis of the type of diabetes and microvascular complications. *Diabetologia*, 31(12): 892-895.
- Pitocco, D., Crinò, A., Di Stasio, E., Manfrini, S., Guglielmi, C., Spera, S., Anguissola, G.B., Visalli, N., Suraci, C., Matteoli, M.C., et al.** (2006) The effects of calcitriol and nicotinamide on residual pancreatic beta-cell function in patients with recent-onset Type 1 diabetes (IMDIAB XI). *Diabet Med*, 23(8): 920-923.
- Pittas, A.G., Lau, J., Hu, F.B. & Dawson-Hughes, B.** (2007) The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, 92(6): 2017-2029.
- Pociot, F., Akolkar, B., Concannon, P., Erlich, H.A., Julier, C., Morahan, G., Nierras, C.R., Todd, J.A., Rich, S.S. & Nerup, J.** (2010) Genetics of type 1 diabetes: what's next? *Diabetes*, 59(7): 1561-1571.
- Porter, F.D.** (2002) Malformation syndromes due to inborn errors of cholesterol synthesis. *J Clin Invest*, 110(6): 715-724.

- Pozzilli, P., Manfrini, S., Crino, A., Picardi, A., Leomanni, C., Cherubini, V., Valente, L., Khazrai, M. & Visalli, N.** (2005) Low levels of 25-hydroxyvitamin D3 and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in patients with newly diagnosed type 1 diabetes. *Horm Metab Res*, 37(11): 680-683.
- Raab, J., Giannopoulou, E.Z., Schneider, S., Warncke, K., Krasmann, M., Winkler, C. & Ziegler, A.G.** (2014) Prevalence of vitamin D deficiency in pre-type 1 diabetes and its association with disease progression. *Diabetologia*, 57(5): 902-908.
- Raab, J., Haupt, F., Kordonouri, O., Scholz, M., Wosch, A., Ried, C., Aschemeier, B., Danne, T., Ziegler, A.G. & Winkler, C.** (2013) Continuous rise of insulin resistance before and after the onset of puberty in children at increased risk for type 1 diabetes - a cross-sectional analysis. *Diabetes Metab Res Rev*, 29(8): 631-635.
- Ramos-Lopez, E., Bruck, P., Jansen, T., Herwig, J. & Badenhoop, K.** (2007) CYP2R1 (vitamin D 25-hydroxylase) gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes and vitamin D levels in Germans. *Diabetes Metab Res Rev*, 23(8): 631-636.
- Ramos-Lopez, E., Kahles, H., Weber, S., Kukic, A., Penna-Martinez, M., Badenhoop, K. & Louwen, F.** (2008) Gestational diabetes mellitus and vitamin D deficiency: genetic contribution of CYP27B1 and CYP2R1 polymorphisms. *Diabetes Obes Metab*, 10(8): 683-685.
- Ramos-Lopez, E., Regulla, K., Pani, M.A., Krause, M., Usadel, K.H. & Badenhoop, K.** (2004a) CYP27B1 polymorphisms variants are associated with type 1 diabetes mellitus in Germans. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 89-90(1-5): 155-157.
- Ramos-Lopez, E., Zwermann, O., Segni, M., Meyer, G., Reincke, M., Seissler, J., Herwig, J., Usadel, K.H. & Badenhoop, K.** (2004b) A promoter polymorphism of the CYP27B1 gene is associated with Addison's disease, Hashimoto's thyroiditis, Graves' disease and type 1 diabetes mellitus in Germans. *Eur J Endocrinol*, 151(2): 193-197.
- Roemmich, J.N., Clark, P.A., Lusk, M., Friel, A., Weltman, A., Epstein, L.H. & Rogol, A.D.** (2002) Pubertal alterations in growth and body composition. VI. Pubertal insulin resistance: relation to adiposity, body fat distribution and hormone release. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 26(5): 701-709.
- Rossetti, L., Giaccari, A. & DeFronzo, R.A.** (1990) Glucose toxicity. *Diabetes Care*, 13(6): 610-630.
- Schlosser, M., Mueller, P.W., Torn, C., Bonifacio, E. & Bingley, P.J.** (2010) Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for insulin autoantibodies. *Diabetologia*, 53(12): 2611-2620.

- Schmid, S., Buuck, D., Knopff, A., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2004) BABYDIET, a feasibility study to prevent the appearance of islet autoantibodies in relatives of patients with Type 1 diabetes by delaying exposure to gluten. *Diabetologia*, 47(6): 1130-1131.
- Schoen, S., Sichert-Hellert, W., Hummel, S., Ziegler, A.G. & Kersting, M.** (2008) Breastfeeding duration in families with type 1 diabetes compared to non-affected families: results from BABYDIAB and DONALD studies in Germany. *Breastfeed Med*, 3(3): 171-175.
- Schuch, N.J., Garcia, V.C., Vivolo, S.R. & Martini, L.A.** (2013) Relationship between Vitamin D Receptor gene polymorphisms and the components of metabolic syndrome. *Nutr J*, 12(96): doi:10.1186/1475-2891-12-96.
- Schuster, I.** (2011) Cytochromes P450 are essential players in the vitamin D signaling system. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1814(1): 186-199.
- Scragg, R., Holdaway, I., Singh, V., Metcalf, P., Baker, J. & Dryson, E.** (1995) Serum 25-hydroxyvitamin D3 levels decreased in impaired glucose tolerance and diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract*, 27(3): 181-188.
- Scragg, R., Sowers, M. & Bell, C.** (2004) Serum 25-hydroxyvitamin D, diabetes, and ethnicity in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Diabetes Care*, 27(12): 2813-2818.
- Shea, M.K., Benjamin, E.J., Dupuis, J., Massaro, J.M., Jacques, P.F., D'Agostino, R.B., Sr., Ordovas, J.M., O'Donnell, C.J., Dawson-Hughes, B., Vasan, R.S., et al.** (2009) Genetic and non-genetic correlates of vitamins K and D. *Eur J Clin Nutr*, 63(4): 458-464.
- Sherry, S.T., Ward, M.H., Kholodov, M., Baker, J., Phan, L., Smigielski, E.M. & Sirotkin, K.** (2001) dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res*, 29(1): 308-311.
- Shinkyō, R., Sakaki, T., Kamakura, M., Ohta, M. & Inouye, K.** (2004) Metabolism of vitamin D by human microsomal CYP2R1. *Biochem Biophys Res Commun*, 324(1): 451-457.
- Siljander, H.T., Hermann, R., Hekkala, A., Lähde, J., Tanner, L., Keskinen, P., Ilonen, J., Simell, O., Veijola, R. & Knip, M.** (2013) Insulin secretion and sensitivity in the prediction of type 1 diabetes in children with advanced beta-cell autoimmunity. *Eur J Endocrinol*, 169(4): 479-485.
- Simpson, M., Brady, H., Yin, X., Seifert, J., Barriga, K., Hoffman, M., Bugawan, T., Baron, A.E., Sokol, R.J., Eisenbarth, G., et al.** (2011) No association of vitamin D

- intake or 25-hydroxyvitamin D levels in childhood with risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the Diabetes Autoimmunity Study in the Young (DAISY). *Diabetologia*, 54(11): 2779-2788.
- Sinotte, M., Diorio, C., Berube, S., Pollak, M. & Brisson, J.** (2009) Genetic polymorphisms of the vitamin D binding protein and plasma concentrations of 25-hydroxyvitamin D in premenopausal women. *Am J Clin Nutr*, 89(2): 634-640.
- Snijder, M.B., van Dam, R.M., Visser, M., Deeg, D.J., Dekker, J.M., Bouter, L.M., Seidell, J.C. & Lips, P.** (2005) Adiposity in relation to vitamin D status and parathyroid hormone levels: a population-based study in older men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(7): 4119-4123.
- Soltesz, G., Patterson, C.C. & Dahlquist, G.** (2007) Worldwide childhood type 1 diabetes incidence--what can we learn from epidemiology? *Pediatr Diabetes*, 8(Suppl s6): 6-14.
- Song, Y., Wang, L., Pittas, A.G., Del Gobbo, L.C., Zhang, C., Manson, J.E. & Hu, F.B.** (2013) Blood 25-hydroxy vitamin D levels and incident type 2 diabetes: a meta-analysis of prospective studies. *Diabetes Care*, 36(5): 1422-1428.
- Sørensen, I.M., Joner, G., Jenum, P.A., Eskild, A., Torjesen, P.A. & Stene, L.C.** (2012) Maternal serum levels of 25-hydroxy-vitamin D during pregnancy and risk of type 1 diabetes in the offspring. *Diabetes*, 61(1): 175-178.
- Sorkio, S., Cuthbertson, D., Barlund, S., Reunanen, A., Nucci, A.M., Berseth, C.L., Koski, K., Ormiston, A., Savilahti, E., Uusitalo, U., et al.** (2010) Breastfeeding patterns of mothers with type 1 diabetes: results from an infant feeding trial. *Diabetes Metab Res Rev*, 26(3): 206-211.
- Sosenko, J.M., Palmer, J.P., Greenbaum, C.J., Mahon, J., Cowie, C., Krischer, J.P., Chase, H.P., White, N.H., Buckingham, B., Herold, K.C., et al.** (2006) Patterns of metabolic progression to type 1 diabetes in the Diabetes Prevention Trial-Type 1. *Diabetes Care*, 29(3): 643-649.
- Souci, S.W., Fachmann, W. & Kraut, H.** 2008. *Die Zusammensetzung der Lebensmittel. Nährwert-Tabellen*. 7. Auflage. Stuttgart: medpharm Scientific Publishers.
- Stene, L.C., Joner, G. & Group, N.C.D.S.** (2003) Use of cod liver oil during the first year of life is associated with lower risk of childhood-onset type 1 diabetes: a large, population-based, case-control study. *Am J Clin Nutr*, 78(6): 1128-1134.
- Ströhle, A., Wolters, M. & Hahn, A.** (2011) Micronutrients at the interface between inflammation and infection--ascorbic acid and calciferol. Part 2: calciferol and the significance of nutrient supplements. *Inflamm Allergy Drug Targets*, 10(1): 64-74.

- Svoren, B.M., Volkening, L.K., Wood, J.R. & Laffel, L.M.** (2009) Significant vitamin D deficiency in youth with type 1 diabetes mellitus. *J Pediatr*, 154(1): 132-134.
- Tai, M.M.** (1994) A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diabetes Care*, 17(2): 152-154.
- The-DIAMOND-Project-Group** (2006) Incidence and trends of childhood Type 1 diabetes worldwide 1990-1999. *Diabet Med*, 23(8): 857-866.
- The-Expert-Committee-on-the-Diagnosis-and-Classification-of-Diabetes-Mellitus** (2003) Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 26(Suppl 1): S5-S20.
- The, N.S., Crandell, J.L., Lawrence, J.M., King, I.B., Dabelea, D., Marcovina, S.M., D'Agostino, R.B., Jr., Norris, J.M., Pihoker, C. & Mayer-Davis, E.J.** (2013) Vitamin D in youth with Type 1 diabetes: prevalence of insufficiency and association with insulin resistance in the SEARCH Nutrition Ancillary Study. *Diabet Med*, 30(11): 1324-1332.
- Thierfelder, W., Dortschy, R., Hintzpeter, B., Kahl, H. & Scheidt-Nave, C.** (2007) Biochemische Messparameter im Kinder- und Jugendgesundheitssurvey (KiGGS). *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz*, 50(5-6): 757-770.
- Thorsen, S.U., Mortensen, H.B., Carstensen, B., Fenger, M., Thuesen, B.H., Husemoen, L.L., Bergholdt, R., Brorsson, C., Pociot, F., Linneberg, A., et al.** (2013) No difference in vitamin D levels between children newly diagnosed with type 1 diabetes and their healthy siblings: a 13-year nationwide Danish study. *Diabetes Care*, 36(9): e157-158.
- Thümer, L., Adler, K., Bonifacio, E., Hofmann, F., Keller, M., Milz, C., Munte, A. & Ziegler, A.G.** (2010) German new onset diabetes in the young incident cohort study: DiMelli study design and first-year results. *Rev Diabet Stud*, 7(3): 202-208.
- Törn, C., Landin-Olsson, M., Lernmark, A., Palmer, J.P., Arnqvist, H.J., Blohmé, G., Lithner, F., Littorin, B., Nyström, L., Scherstén, B., et al.** (2000) Prognostic factors for the course of beta cell function in autoimmune diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 85(12): 4619-4623.
- Törn, C., Mueller, P.W., Schlosser, M., Bonifacio, E. & Bingley, P.J.** (2008) Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for autoantibodies to glutamic acid decarboxylase and islet antigen-2. *Diabetologia*, 51(5): 846-852.
- Travers, S.H., Jeffers, B.W., Bloch, C.A., Hill, J.O. & Eckel, R.H.** (1995) Gender and Tanner stage differences in body composition and insulin sensitivity in early pubertal children. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(1): 172-178.

- TRIGR-Study-Group** (2007) Study design of the Trial to Reduce IDDM in the Genetically at Risk (TRIGR). *Pediatr Diabetes*, 8(3): 117-137.
- Virtanen, S.M., Kenward, M.G., Erkkola, M., Kautiainen, S., Kronberg-Kippila, C., Hakulinen, T., Ahonen, S., Uusitalo, L., Niinisto, S., Veijola, R., et al.** (2006) Age at introduction of new foods and advanced beta cell autoimmunity in young children with HLA-conferred susceptibility to type 1 diabetes. *Diabetologia*, 49(7): 1512-1521.
- Walter, M., Kaupper, T., Adler, K., Försch, J., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2010) No effect of the 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 on beta-cell residual function and insulin requirement in adults with new-onset type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 33(7): 1443-1448.
- Wang, Q., Xi, B., Reilly, K.H., Liu, M. & Fu, M.** (2012) Quantitative assessment of the associations between four polymorphisms (FokI, ApaI, BsmI, TaqI) of vitamin D receptor gene and risk of diabetes mellitus. *Mol Biol Rep*, 39(10): 9405-9414.
- Wang, T.J., Zhang, F., Richards, J.B., Kestenbaum, B., van Meurs, J.B., Berry, D., Kiel, D.P., Streeten, E.A., Ohlsson, C., Koller, D.L., et al.** (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet*, 376(9736): 180-188.
- Waterham, H.R. & Wanders, R.J.** (2000) Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Biochim Biophys Acta*, 1529(1-3): 340-356.
- Wilkin, T.J.** (2001) The accelerator hypothesis: weight gain as the missing link between Type I and Type II diabetes. *Diabetologia*, 44(7): 914-922.
- Winkler, C., Lauber, C., Adler, K., Grallert, H., Illig, T., Ziegler, A.G. & Bonifacio, E.** (2011) An interferon-induced helicase (IFIH1) gene polymorphism associates with different rates of progression from autoimmunity to type 1 diabetes. *Diabetes*, 60(2): 685-690.
- Winkler, C., Marienfeld, S., Zwilling, M., Bonifacio, E. & Ziegler, A.G.** (2009) Is islet autoimmunity related to insulin sensitivity or body weight in children of parents with type 1 diabetes? *Diabetologia*, 52(10): 2072-2078.
- Wolden-Kirk, H., Gysemans, C., Verstuyf, A. & Mathieu, C.** (2012) Extraskelatal Effects of Vitamin D. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 41(3): 571-594.
- Wolden-Kirk, H., Overbergh, L., Christesen, H.T., Brusgaard, K. & Mathieu, C.** (2011) Vitamin D and diabetes: its importance for beta cell and immune function. *Mol Cell Endocrinol*, 347(1-2): 106-120.

- Xu, P., Cuthbertson, D., Greenbaum, C., Palmer, J.P. & Krischer, J.P.** (2007) Role of insulin resistance in predicting progression to type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 30(9): 2314-2320.
- Zeitz, U., Weber, K., Soegiarto, D.W., Wolf, E., Balling, R. & Erben, R.G.** (2003) Impaired insulin secretory capacity in mice lacking a functional vitamin D receptor. *FASEB J*, 17(3): 509-511.
- Zerwekh, J.E.** (2008) Blood biomarkers of vitamin D status. *Am J Clin Nutr*, 87(4): 1087s-1091s.
- Zhang, J., Li, W., Liu, J., Wu, W., Ouyang, H., Zhang, Q., Wang, Y., Liu, L., Yang, R., Liu, X., et al.** (2012) Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and type 1 diabetes mellitus risk: an update by meta-analysis. *Mol Cell Endocrinol*, 355(1): 135-142.
- Zhang, R. & Naughton, D.P.** (2010) Vitamin D in health and disease: current perspectives. *Nutr J*, 9(65): doi:10.1186/1475-2891-9-65.
- Ziegler, A.G., Baumgartl, H.J., Ede, G., Held, M., Vogt, H.J., Kolb, H.J. & Standl, E.** (1990) Low-pigment skin type and predisposition for development of type I diabetes. *Diabetes Care*, 13(5): 529-531.
- Ziegler, A.G. & Bonifacio, E.** (2012) Age-related islet autoantibody incidence in offspring of patients with type 1 diabetes. *Diabetologia*, 55(7): 1937-1943.
- Ziegler, A.G., Hummel, M., Schenker, M. & Bonifacio, E.** (1999) Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes*, 48(3): 460-468.
- Ziegler, A.G., Meier-Stiegen, F., Winkler, C., Bonifacio, E. & TEENDIAB-Study-Group** (2012) Prospective evaluation of risk factors for the development of islet autoimmunity and type 1 diabetes during puberty - TEENDIAB: study design. *Pediatr Diabetes*, 13(5): 438-443.
- Ziegler, A.G. & Nepom, G.T.** (2010) Prediction and pathogenesis in type 1 diabetes. *Immunity*, 32(4): 468-478.
- Ziegler, A.G., Rewers, M., Simell, O., Simell, T., Lempainen, J., Steck, A., Winkler, C., Ilonen, J., Veijola, R., Knip, M., et al.** (2013) Seroconversion to multiple islet autoantibodies and risk of progression to diabetes in children. *Jama*, 309(23): 2473-2479.
- Ziegler, A.G., Schmid, S., Huber, D., Hummel, M. & Bonifacio, E.** (2003) Early infant feeding and risk of developing type 1 diabetes-associated autoantibodies. *Jama*, 290(13): 1721-1728.

8. Appendix

Publikationsverzeichnis

Originalarbeiten

*Raab, J., Giannopoulou, E.Z., Schneider, S., Warncke, K., Krasmann, M., Winkler, C. & Ziegler, A.G. (2014) Prevalence of vitamin D deficiency in pre-type 1 diabetes and its association with disease progression. *Diabetologia*, 57, 902-908.

Weber, K.S., Raab, J., Haupt, F., Aschemeier, B., Wosch, A., Ried, C., Kordonouri, O., Ziegler, A.-G. & Winkler, C. (2014) Evaluating the diet of children at increased risk for type 1 diabetes: first results from the TEENDIAB study. *Public Health Nutr.* DOI: 10.1017/S1368980013003406

*Raab, J., Haupt, F., Kordonouri, O., Scholz, M., Wosch, A., Ried, C., Aschemeier, B., Danne, T., Ziegler, A.G. & Winkler, C. (2013) Continuous rise of insulin resistance before and after the onset of puberty in children at increased risk for type 1 diabetes - a cross-sectional analysis. *Diabetes Metab Res Rev*, 29, 631-635.

Winkler, C., Raab, J., Grallert, H. & Ziegler, A.-G. (2012) Lack of Association of Type 2 Diabetes Susceptibility Genotypes and Body Weight on the Development of Islet Autoimmunity and Type 1 Diabetes. *PLoS ONE*, 7, e35410.

Ziegler A.-G., Meier-Stiegen F., Winkler C., Bonifacio E.; TEENDIAB Study Group. (2012) Prospective evaluation of risk factors for the development of islet autoimmunity and type 1 diabetes during puberty - TEENDIAB: study design. *Pediatr Diabetes*, 13, 419-424.

Übersichtsartikel

Roßbauer M., Krause S., Knoop J., Raab J. (2014) Entstehung und Progression – „Shaping Type 1 Diabetes“. *Diabetes Congress Report*, 1, 12-18.

Die mit * gekennzeichneten Artikel sind Teil der Dissertation.

Abstracts

Raab, J., Haupt, F., Kordonouri, O., Scholz, M., Wosch, A., Ried, C., Aschemeier, B., Danne, T., Ziegler, A.G. & Winkler, C. (2013) Kontinuierlicher Anstieg der Insulinresistenz vor und nach dem Beginn der Pubertät – Ergebnisse bei Kindern mit einem erhöhten Typ 1 Diabetes Risiko. 48. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 8(S 01): P192.

Weber, K., Raab, J., Haupt, F., Aschermeier, B., Wosch, A., Ried, C., Kordonouri, O., Ziegler, A.G. & Winkler, C. (2013) Nährstoffzufuhr und Lebensmittelverzehr von 8 – 12-jährigen Teilnehmern der TEENDIAB-Studie: Haben Kinder mit erhöhtem Risiko für Typ 1 Diabetes ein verändertes Ernährungsverhalten? 48. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 8(S 01): P149.

Hillebrand, K., Wehner, C., Ziegler, A.G., Winkler, C., Raab, J., Bruckmeier, N. & Lange, K. (2012) Gesundheitsbezogene Lebensqualität und Verhaltensprobleme von 8–13-jährigen Teilnehmern der TEENDIAB-Studie: Sind Geschwister von Kindern mit Typ 1 Diabetes belastete „Schattenkinder“? 47. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 7(S 01): FV_25.

Wehner, C., Hillebrand, K., Ziegler, A.G., Winkler, C., Raab, J., Bruckmeier, N. & Lange, K. (2012) Welche Familien nehmen an der TEENDIAB-Studie zur prospektiven Verlaufsbeobachtung der Autoimmunität teil? Ängste, Belastungen und sozioökonomischer Status der Familien bei Studienbeginn. 47. Jahrestagung der Deutschen Diabetes Gesellschaft. *Diabetologie und Stoffwechsel*, 7(S 01): FV_26.

Raab, J., Winkler, C., Meier-Stiegen, F., Förch, J. & Ziegler, A.-G. (2011) Effects of vitamin D3 on beta cell function and insulin resistance in children at increased risk of type 1 diabetes. Abstracts of the 47th Annual Meeting of the EASD, Lisbon 2011. *Diabetologia*, 54(1): 253-254.

Danksagung

Ich möchte die Gelegenheit nutzen, um mich an dieser Stelle bei allen zu bedanken, die zum Gelingen meiner Dissertation beigetragen haben.

An erster Stelle gebührt mein besonderer Dank Frau Prof. Dr. Anette-Gabriele Ziegler für die Bereitstellung meines Promotionsthemas, den Zugang zu einzigartigem Probenmaterial, für Ihren fachlichen Input, sowie die wissenschaftliche Betreuung und letztendlich für die Aufnahme in ihr Team des Instituts für Diabetesforschung in München.

Herrn Prof. Dr. Witt möchte ich ganz herzlich für die universitäre Betreuung meiner Arbeit danken und das er mir die Möglichkeit gegeben hat, in seiner Arbeitsgruppe am Wissenschaftszentrum Weihenstephan zu promovieren.

Meiner Mentorin Frau Dr. Christiane Winkler kann ich nicht genug danken. Ohne ihren unermüdlichen Einsatz, die große fachliche, aber auch freundschaftliche Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Weiterhin möchte ich mich bei Dr. Franziska Meier-Stiegen, Katja Voit und Melanie Herbst für die Einarbeitung in die TEENDIAB Studie und natürlich bei allen teilnehmenden Kindern bedanken, wodurch der Grundstein für meine Arbeit gelegt wurde.

Ich danke von ganzem Herzen dem gesamten Team vom Institut für Diabetesforschung für die angenehme Arbeitsatmosphäre, die kollegiale Unterstützung und die vielen gemeinsamen Aktivitäten auch außerhalb der Arbeitszeit: Steffi, Christiane, Maren, Florian, Marlon, Claudi, Lisa, Dani und Lorenz.

Ein besonders großes Dankeschön gilt meiner Bürokollegin, mit-Doktorandin, Leidensgenossin, Reise- und Radlpartnerin und guten Freundin Michaela Roßbauer, die mit mir vier Jahre lang Höhen und Tiefen des Doktoranden-Daseins geteilt hat und immer ein offenes Ohr für mich hatte!

Meiner Familie und meinen wunderbaren Freunden bin ich sehr dankbar Ihre Unterstützung und Wegbegleitung: Danke, dass ich mich immer auf Euch verlassen konnte.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Jennifer Raab
Geburtsdatum	15.04.1985
Geburtsort	Schmalkalden
Familienstand	ledig

Promotion

04/2010 bis dato	Doktorand (extern) am Else Kröner-Fresenius-Zentrum für Ernährungsmedizin, Fachgruppe Pädiatrische Ernährungsmedizin unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. med. Heiko Witt; in Kooperation mit dem Institut für Diabetesforschung, Helmholtz Zentrum München, und Forschergruppe Diabetes, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München (Direktorin: Univ.-Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler)
------------------	--

Hochschulstudium

10/2003 bis 02/2010	Studium der Ernährungswissenschaft (Diplom) an der Friedrich-Schiller-Universität Jena (FSU), Note: 1,7 Diplomarbeit zum Thema „Untersuchungen zum Einfluss von n-3-LC-PUFA auf Entzündungsparameter <i>in vitro</i> und <i>in vivo</i> “ am Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie der FSU Jena unter der Leitung von Prof. Dr. habil. Gerhard Jahreis
---------------------	---

Schulbildung

08/1995 bis 06/2003	Philipp-Melanchthon-Gymnasium Schmalkalden Abschluss: Abitur (Note: 1,8)
08/1991 bis 07/1995	Staatliche Grundschule Struth-Helmershof